



ISSN 1607-9906 (print)
ISSN 2312-4156 (online)

ВЕСТНИК

Витебского государственного медицинского университета

Рецензируемый
научно-практический журнал

Vestnik of Vitebsk State Medical University

Peer-reviewed scientific-practical journal

2019
Том 18
№5
**(сентябрь-
октябрь)**



МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

ВЕСТНИК

Витебского государственного медицинского университета

Том 18 №5 (сентябрь-октябрь) 2019

ISSN 1607-9906 (print), ISSN 2312-4156 (online)

Рецензируемый научно-практический журнал. Основан в 2002 году. Периодичность – 6 раз в год.

Учредитель и издатель – Учреждение образования «Витебский государственный
ордена Дружбы народов медицинский университет»

Журнал является членом Cross Ref и Ассоциации научных редакторов и издателей (АНРИ).

Главный редактор:

Щастный Анатолий Тадеушевич – д.м.н., профессор.

Редакционная коллегия:

Алексанин С.С. – д.м.н., профессор, г.Санкт-Петербург, Россия;
Бекиш В.Я. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Бузук Г.Н. – д.ф.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Бурак И.И. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Глушанко В.С. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Городецкая И.В. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Деркач Ю.Н. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Жданова О.Б. – д.б.н., профессор, г.Киров, Россия;
Жебентяев А.И. – д.ф.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Кабанова С.А. – к.м.н., доцент, г.Витебск, Беларусь;
Козловский В.И. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Конева Н.Ю. – зам. главного редактора, д.б.н., профессор,
г.Витебск, Беларусь;
Коноров М.Р. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Кугач В.В. – к.ф.н., доцент, г.Витебск, Беларусь;
Кунцевич З.С. – д.пед.н., доцент, г.Витебск, Беларусь;
Луд Н.Г. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Наркевич И.А. – д.ф.н., профессор, г.Санкт-Петербург, Россия;
Пиманов С.И. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Прищепа И.М. – д.б.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Подпалов В.П. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Семенов В.М. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Снежицкий В.А. – д.м.н., профессор, г.Гродно, Беларусь
Сучков И.А. – д.м.н., доцент, г.Рязань, Россия;
Сушков С.А. – к.м.н., доцент, г.Витебск, Беларусь;
Усович А.К. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Холод В.М. – д.б.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Чернявский Ю.П. – к.м.н., доцент, г.Витебск, Беларусь.

Редакционный совет:

Адаскевич В.П. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Алексеев Ю.В. – к.м.н., доцент, г.Витебск, Беларусь;
Басявичюс Р.В. – д.м.н., профессор, г.Каунас, Литва;
Бяловский Ю.Ю. – д.м.н., профессор, г.Рязань, Россия;
Власов Т.Д. – д.м.н., профессор, г.С.-Петербург, Россия;
Генералов И.И. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Клочкова С.В. – д.м.н., профессор, г.Москва, Россия;
Краснюк И.И. – д.ф.н., профессор, г.Москва, Россия;
Кубилиус Р.З. – д.м.н., профессор, г.Каунас, Литва;
Кулик С.П. – к.филос.н., доцент, г.Витебск, Беларусь;
Лабанаускас Л.В. – д.м.н., профессор, г.Каунас, Литва;
Лея М.Ю. – д.м.н., профессор, Латвия;
Литвяков А.М. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Лысенко И.М. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Львов А.Н. – д.м.н., профессор, г.Москва, Россия;
Маланчук В.А. – д.м.н., профессор, г.Киев, Украина;
Матлавска И. – профессор, г.Познань, Польша;
Мрочек А.Г. – д.м.н., профессор, г.Минск, Беларусь;
Мяделец О.Д. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Никитюк Д.Б. – д.м.н., профессор, г.Москва, Россия;
Новиков Д.К. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Осочук С.С. – д.м.н., доцент, г.Витебск, Беларусь;
Пискун Д.В. – к.м.н., г.Бад-Гарцбург, Германия;
Рубникович С.П. – д.м.н., профессор, г.Минск, Беларусь;
Сиврев Д.П. – д.м.н., профессор, г.Стара Загора, Болгария;
Титов Л.П. – д.м.н., профессор, г. Минск, Беларусь;
Цыркунов В.М. – д.м.н., профессор, г. Гродно, Беларусь;
Чумак А.Г. – д.б.н., профессор, г. Минск, Беларусь;
Юпатов Г.И. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь.

Секретариат:

Бешко И.А.; Есипова Л.В.; Кадушко Р.В., к.филос.н., доцент; Ксениди И.Д., Лапурсева И.Н.; Флоряну И.А., к.филос.н., доцент.

Адрес редакции: 210009, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27, тел. +375 (212) 55-10-95, <http://vestnik.vsmu.by>, e-mail: vestnik.vsmu@tut.by
Журнал зарегистрирован в Министерстве информации Республики Беларусь, свидетельство № 108 от 22.04.2009 г.

Ministry of Public Health of the Republic of Belarus
Vitebsk State Medical University

VESTNIK of Vitebsk State Medical University

(Vestnik Vitebskogo Gosudarstvennogo Meditsinskogo Universiteta)

Vol. 18 No. 5 (September-October) 2019

ISSN 1607-9906 (print), ISSN 2312-4156 (online)

Peer-reviewed scientific-practical journal. Founded in 2002. Frequency – 6 time per year.
The founder and publisher – Educational Establishment «Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University»

The journal is a member of CrossRef and Association of Science Editors and Publishers.

Editor-in-chief:

Shchastnyi Anatoliy Tadeushevich – PhD, MD (Medicine), professor.

Editorial board:

Aleksanin S.S. – PhD, MD (Medicine), professor, Russia;
Bekish V.Ya. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Buzuk G.N. – PhD, MD (Pharmacy), professor, Belarus;
Burak I.I. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Glushanko V.S. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Gorodetskaya I.V. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Derkach Yu.N. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Zhdanova O.B. – PhD, MD (Biology), professor, Russia;
Zhebentyaev A.I. – PhD, MD (Pharmacy), professor, Belarus;
Kabanova S.A. – PhD (Medicine), associate professor, Belarus;
Kozlovskiy V.I. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Konevalova N.Yu. – PhD, MD (Biology), professor,
deputy editor-in-chief, Belarus;
Konorev M.R. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Kugach V.V. – PhD (Pharmacy), associate professor, Belarus;
Kuntsevich Z.S. – PhD, MD (Pedagogy), associate professor, Belarus;
Lud N.G. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Narkevich I.A. – PhD, MD (Pharmacy), professor, Russia;
Pimanov S.I. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Prishchepa I.M. – PhD, MD (Biology), professor, Belarus;
Podpalov V.P. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Semenov V.M. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Snezhitskiy V.A. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus
Suchkov I.A. – PhD, MD (Medicine), associate professor, Russia;
Sushkov S.A. – PhD (Medicine), associate professor, Belarus;
Usovich A.K. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Kholod V.M. – PhD, MD (Biology), professor, Belarus;
Chernyavsky Yu.P. – PhD (Medicine), associate professor, Belarus.

Editorial council:

Adaskevich V.P. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Alekseyenko Yu.V. – PhD (Medicine), associate professor, Belarus;
Basyavichus R.V. – PhD, MD (Medicine), professor, Lithuania;
Byalovsky Yu.Yu. – PhD, MD (Medicine), professor, Russia;
Vlasov T.D. – PhD, MD (Medicine), professor, Russia;
Generalov I.I. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Klochko S.V. – PhD, MD (Medicine), professor, Russia;
Krasnyuk I.I. – PhD, MD (Pharmacy), professor, Russia;
Kubilyus R.Z. – PhD, MD (Medicine), professor, Lithuania;
Kulik S.P. – PhD (Philosophy), associate professor, Belarus;
Labanauskas L.V. – PhD, MD (Medicine), professor, Lithuania;
Leya M.Yu. – PhD, MD (Medicine), professor, Latvia;
Litvyakov A.M. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Lysenko I.M. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Lvov A.N. – PhD, MD (Medicine), professor, Russia;
Malanchuk V.A. – PhD, MD (Medicine), professor, Ukraine;
Matlavskaya I. – professor, Poland;
Mrochek A.G. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Myadelets O.D. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Nikityuk D.B. – PhD, MD (Medicine), professor, Russia;
Novikov D.K. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Osochuk S.S. – PhD, MD (Medicine), associate professor, Belarus;
Piskun D.V. – PhD (Medicine), Germany;
Rubnikov S.P. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Sivrev D.P. – PhD, MD (Medicine), professor, Bulgaria;
Titov L.P. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Tsyrunov V.M. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Chumak A.G. – PhD, MD (Biology), professor, Belarus;
Yupatov G.I. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus.

Secretariate:

Bebeshko I.A.; Esipova L.V.; Kadushko R.V., PhD (Philology), associate professor; Ksenidi I.D.; Lapuseva I.N.;
Floryanu I.A., PhD (Philology), associate professor.

Editorial office: 210009, Vitebsk, Frunze ave., 27, phone: (0212) 55-10-95, <http://vestnik.vsmu.by>, e-mail: vestnik.vsmu@tut.by

The journal is registered in the Ministry of Information of the Republic of Belarus, certificate of registration № 108, dated 22.04.2009.

© Vitebsk State Medical University, 2019

СОДЕРЖАНИЕ

Щастный А.Т.

85 лет в образовательном процессе

Обзор

Беляева Л.Е., Павлюкевич А.Н.

Раннее программирование заболеваний человека и использование нутрицевтиков с профилактической целью: фокус на рыбий жир. Обзор литературы. Часть 2

Минина Е.С., Новиков П.Д., Сенькович С.А.

Эозинофильные внеклеточные ловушки: роль в норме и при патологии

Микробиология

Пугач В.В.

Видовая структура микроорганизмов, входящих в состав микробиоценозов плавательных бассейнов

Внутренние болезни

Прудников А.Р.

Качество жизни пациентов с различными формами ИБС (инфаркт миокарда, стабильная стенокардия напряжения) после стентирования коронарных артерий

Паразитология

Побяржин В.В.

Влияние *Trichinella spiralis* на структуру и иммуногистохимические показатели тканей экспериментальной глиомы и некоторых органов крыс

Нейрохирургия

Петухов В.И., Кубраков К.М., Корнилов А.В., Кунцевич М.В.

Оценка эффективности алгоритма лечения пациентов с неспецифическими гнойно-воспалительными заболеваниями позвоночника

Анестезиология и реаниматология

Земко В.Ю., Окулич В.К., Дзядзько А.М., Колчанова Н.Э., Корнилов А.В., Сенькович С.А.

Значимость содержания ДНК в составе микробной биопленки в патогенезе тяжелых респираторных инфекций и моделировании исхода заболевания

CONTENTS

7 Shchastniy A.T.

85 years in the educational process

Review

12 Belyaeva L.E., Pauliukevich A.N.

The early programming of human diseases and the application of nutraceuticals for their prevention: focus on fish oil. Literature review. Part 2

26 Minina E.S., Novikov P.D., Senkovich S.A.

Eosinophil extracellular traps: their role in health and disease

Microbiology

35 Pugach V.V.

Species composition of microorganisms being a part of microbiocenosis of the swimming-pools

Internal medicine

45 Prudnikov A.R.

Life quality of patients with various forms of coronary heart disease (myocardial infarction, effort angina pectoris) after coronary artery stenting

Parasitology

53 Pabiarzhyn V.V.

The influence of *Trichinella spiralis* on the structure and immunohistochemical parameters of experimental glioma tissues and some organs of rats

Neurosurgery

59 Petukhov V.I., Kubrakov K.M., Kornilov A.V., Kunciewicz M.V.

The evaluation of the efficacy of the algorithm used for treatment of patients with nonspecific pyo-inflammatory diseases of the spine

Anesthesiology and resuscitation

69 Ziamko V.Y., Okulich V.K., Dzyadzko A.M., Kolchanova N.E., Kornilov A.V., Senkovich S.A.

The role of DNA content in the composition of microbial biofilm in the pathogenesis of severe respiratory infections and the disease outcome modelling

Ревматология

Волкова М.В., Кундер Е.В., Генералов И.И., Сенькович С.А., Кундер В.И.

Клиническое значение ферментативной активности сыворотки крови, провоспалительных цитокинов и ферритина при ревматоидном артрите

Лучевая диагностика, лучевая терапия

Бондаренко В.М., Пиманов С.И., Макаренко Е.В.

Ультразвуковая диагностика локальных жировых депо у пациентов с артериальной гипертензией и ишемической болезнью сердца

Стоматология

Казеко Л.А., Захарова В.А., Анфиногенова Е.А., Черствый Е.Д.

Особенности и прогностическое значение характера экспрессии матриксной металлопротеиназы 8 при патологии периодонта

Технология получения лекарств.

Фармацевтическая химия, фармакогнозия. Организация фармацевтического дела

Вернигорова М.Н., Бузук Г.Н.

Хроматоденситометрическое изучение листьев брусники обыкновенной (*Vaccinium vitis-idaea* L.)

Педагогика и психология высшей школы

Асмоловский А.В., Шаматкова С.В.

Особенности преподавания оперативной хирургии и топографической анатомии на современном этапе

Городецкая И.В., Коневалова Н.Ю., Захаревич В.Г.

Исследование ситуативной и личностной тревожности студентов

Юбилей

К юбилею Святослава Павловича Кулика. 60 лет со дня рождения

Любить то, чем занимаешься. Уважать тех, кто рядом: к юбилею Людмилы Евгеньевны Тригорловой. 60 лет со дня рождения

Новости

Правила для авторов

Rheumatology

Volkava M.V., Kundzer E.V., Generalov I.I., Senkovich S.A., Kundzer V.I.

Clinical value of blood serum enzymatic activity, proinflammatory cytokines and ferritin in rheumatoid arthritis

Radiodiagnosis and radiotherapy

Bondarenko V.M., Pimanov S.I., Makarenko E.V.

Ultrasound diagnosing of local fat deposits in patients with arterial hypertension and ischemic heart disease

Dentistry

Kazeko L.A., Zakharava V.A., Anfinogenova E.A., Cherstvoy E.D.

The peculiarities and prognostic value of the matrix metalloproteinase 8 expression character in periodontal pathology

Technology of drugs production.

Pharmaceutical chemistry, pharmacognosy. Organization of pharmacy

Vernigorova M.N., Buzuk G.N.

Chromatodensitometric study of the common lingonberry leaves (*Vaccinium vitis-idaea* L.)

Pedagogics and psychology of higher school

Asmolovskiy A.V., Shamatkova S.V.

The peculiarities of teaching operative surgery and topographic anatomy at the present stage

Gorodetskaya I.V., Konevalova N.Y., Zakharevich V.G.

The study of the situational and personal anxiety of students

Jubilee

To the 60th anniversary of S.P. Kulik

To enjoy what you do. To respect those who are near you: to the 60th anniversary of L.Y. Trigorlova

News

Instructions for authors

85 ЛЕТ В ОБРАЗОВАТЕЛЬНОМ ПРОЦЕССЕ

ЩАСТНЫЙ А.Т.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2019. – Том 18, №5. – С. 7-11.

85 YEARS IN THE EDUCATIONAL PROCESS

SHCHASTNIY A.T.

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2019;18(5):7-11.

В 2019 году учреждению образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» исполняется 85 лет. Основанный в 1934 году, он может гордиться не одним поколением ученых, преподавателей и студентов, которые внесли достойный вклад в развитие науки, образования, культуры и общественно-политической жизни нашей страны.

Сейчас ВГМУ – один из крупнейших и престижнейших медицинских университетов в Республике Беларусь. Он обеспечивает подготовку специалистов с высшим образованием, а также осуществляет подготовку лиц для поступления в учреждения образования, подготовку научных работников высшей квалификации, переподготовку и повышение квалификации кадров с высшим образованием, профессиональную подготовку врачей-специалистов в клинической ординатуре.

В университете работают 1549 сотрудников. Из них 727 человек – профессорско-препо-

давательский состав, в том числе 60 докторов наук, 263 кандидата наук; на одного доктора наук приходится 80 студентов дневной формы обучения. 44% преподавателей имеют ученые звания и степени. Почётные звания «Заслуженный деятель науки БССР» и «Заслуженный деятель науки Республики Беларусь» присвоены 4 сотрудникам, «Заслуженный врач Республики Беларусь» – 2, медалью Ф. Скорины награждены 4 сотрудника, медалью «За трудовые заслуги» – 3.



В настоящее время в ВГМУ обучается около 7000 студентов, включая 1330 иностранных студентов из 45 стран мира, и слушателей. За последние пять лет численность студентов увеличилась в 1,2 раза (в том числе за счет студентов из стран ближнего и дальнего зарубежья). Степени, присваиваемые по окончании ВГМУ, признаны Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ), Образовательной комиссией по иностран-

ным медицинским дипломированным специалистам (ECFMG, Филадельфия, США), Литовским центром по оценке качества высшего образования (Литва), Министерством просвещения и высшего образования Республики Ливан, Федеративной службой проверки дипломов (FCVS, Даллас, США), Медицинскими советами Индии, Республики Мальдивы, Ирландии и т.д.

В университете функционируют 7 факультетов и 63 кафедры, которые оснащены современными автоматизированными средствами обучения, наборами муляжей и фантомов, сложным лечебно-диагностическим оборудованием. Преподавание подкреплено надежным педагогическим опытом, высококвалифицированной исследовательской деятельностью и хорошими академическими средствами обучения.



Пристальное внимание в университете уделяется повышению качества знаний студентов. В университете созданы лаборатория инновационной педагогики, отдел дистанционного обучения, учебно-научно-клинические (производственные) комплексы, учебный центр практической подготовки и симуляционного обучения, включающий в себя 8 технически оснащенных учебных классов вместимостью 170 человек, Центр информационных технологий.

В университете также имеются учебные операционные, рентгенкабинеты, зубоучебный кабинет, аптеки, клиника с современным диагностическим и лечебным оборудованием. Оснащенность техническими средствами обучения позволяет использовать в учебном процессе современные информационные технологии. Библиотека имеет читальные залы на 800 посадочных мест. В ВГМУ работают 6 компьютерных классов на 142 рабочих места, подключенных к сети Интернет. В пределах студенческого городка действует беспроводная сеть WI-FI для доступа к интранет-серверу ВГМУ и электронной би-

блиотеке. Студентам и профессорско-преподавательскому составу университета предоставляется доступ к мировым научным базам данных. Репозиторий университета по итогам 2018 г. занял 350 место в мире и 4 – в Республике Беларусь (из 3000 репозиториев).

Практикоориентированное обучение студентов начинается с первого курса и включает обучение на практических занятиях на клинических базах университета, в учебном центре практической подготовки и симуляционного обучения, прохождение производственных практик с последующей сдачей объективного структурированного клинического экзамена по уходу за пациентами и манипуляционной технике. Для повышения качества и эффективности практикоориентированной подготовки специалистов в 2018 г. создан Центр профессионального мастерства. В структуру Центра вошли 8 лабораторий для углубленной подготовки студентов.

В принадлежащей ВГМУ стоматологической клинике студенты могут закрепить полученные знания на практике. Открыт филиал кафедр анестезиологии и реаниматологии и хирургии ФПК на базе областной больницы г. Могилёва.

Средний балл по дисциплинам государственных экзаменов возрос с 8,04 до 8,21. Ежегодно 98% студентов получают стипендии, 4 студента университета получают стипендию Президента Республики Беларусь.

Обучение в университете ведется по современным программам, соответствующим европейским стандартам. Активно применяются следующие инновационные технологии: электронные учебно-методические комплексы в современной системе дистанционного обучения на русском и английском языках; электронный журнал учета академической успеваемости студентов; электронный студенческий билет, позволяющий сту-



денту получить доступ ко всем информационным ресурсам вуза; вебинары и телеконсультирование; репозиторий (электронная библиотека).

Около двух тысяч студентов ВГМУ 20 июня 2019 года впервые получили уникальный электронный студенческий билет, совмещенный с банковской платежной картой Visa Classic. Новый студенческий билет совмещает на одном бесконтактном микрочипе средство радиочастотной идентификации и платежное приложение. Первое обеспечивает пропуск в корпуса и общежития университета, а также обслуживание в компьютерных классах и библиотеке ВГМУ, второе дает возможность производить различные расчеты. Новый студенческий билет станет помощником и на отдыхе, позволив совершать расчеты за границей, бронировать и оплачивать проживание, авиа- и железнодорожные билеты.

Материально-техническая база университета постоянно обновляется и поддерживается в надлежащем состоянии. В 2017-2018 гг. завершено строительство общежития № 7 университета, первая очередь которого на 531 место была торжественно открыта в сентябре 2017 года, а вторая на 462 места – в феврале 2018 года. Обеспеченность студентов местами в общежитии составляет 100%.



В 2017 году была завершена модернизация отделения пластической хирургии Клиники ВГМУ. По используемым материалам, медицинскому оборудованию, оснащению отделение пластической хирургии Клиники ВГМУ является одним из самых современных в городе и республике.

На базе университета в 2016 г. создан единственный в республике народный факультет «Здоровьесбережение», который проводит волонтерский медико-социальный проект «Санаторий на дому», реализуются мероприятия Конвенции по правам инвалидов. Получен гран-при в номинации «Волонтерство в ЗОЖ». По итогам 2018 года уни-

верситет награжден Серебряной медалью «Брэнд года 2018» в номинации «Социально ответственный брэнд», категория «Здоровье и качество жизни человека – интеграция через медицину, образование и спорт».



Идеологическая и воспитательная работа в университете проводится в соответствии с Кодексом Республики Беларусь об образовании, Программой непрерывного воспитания детей и учащейся молодежи в Республике Беларусь. Ежемесячно выпускается многотиражная газета «Медвузовец». Актуализируется работа школы «Лидер» для студенческого актива и школы молодого избирателя. Проводится активная работа по привлечению студентов к занятиям в коллективах художественной самодеятельности, клубах по интересам, а также культурно-массовой и общественной жизни. В студенческом клубе работают 12 коллективов, в которых на постоянной основе занимается около 300 студентов. Организована работа 18-ти спортивных секций по 14-ти видам спорта. В университете действуют общественное объединение «Белорусский республиканский союз молодежи», общественное объединение «Белая Русь», первичная организация студентов Белорусского Общества «Красный Крест». Численность первичной организации ПО ОО «БРСМ» – 2598 студентов. Численность пер-



вичной организации профкома студентов – 4549 человек.

По итогам Республиканского фестиваля творчества студенческой и учащейся молодёжи «Арт-вакацыі-2018» университету была вручена Благодарность Министерства образования Республики Беларусь «За многолетнюю плодотворную деятельность по сохранению традиций и популяризацию достижений любительских коллективов, содействие развитию инновационных форм молодёжного творчества».



ВГМУ активно расширяет межвузовские контакты с зарубежными странами. Так, в период с 2015 по 2019 гг. подписано и реализуется 34 международных соглашения о научном и образовательном сотрудничестве с крупнейшими учреждениями и организациями России, Украины, Казахстана, стран ЕС, США, Латинской Америки, Японии и др.

Активно развивается и академическая мобильность. За отчетный период в рамках действующих межвузовских договоров 259 студентов приняли участие в программах межвузовской академической мобильности, что составляет прирост в 197% к показателям 2015 года.

Ежегодно университет активно участвует в конкурсах заявок для участия в международных программах и проектах. В настоящее время реализуется проект в рамках программы трансграничного сотрудничества «Литва-Латвия-Беларусь», а также получен грант на стажировку студентов и преподавателей по программе кредитной мобильности Erasmus+.

Для повышения привлекательности обучения в ВГМУ, повышения престижа вуза, а также создания перспектив для дальнейшего трудоустройства выпускников из числа иностранных граждан с 2018 года начата реализация проекта, направленного на подготовку выпускников к сдаче лицензирующих экзаменов в различных зарубежных странах.

В университете сформировались и функ-

ционируют 17 научно-педагогических школ по медико-биологическим, клиническим и фармацевтическим дисциплинам.

Подготовка научных работников высшей квалификации через аспирантуру ведется по 39-ти научным специальностям, через докторантуру – по 20-ти. За последние 5 лет подготовлено 8 докторов и 76 кандидатов наук. В университете сформировалось 20 крупных научно-педагогических школ, которые вносят существенный вклад в развитие современной медицинской и фармацевтической науки и практики в Республике Беларусь и СНГ. В университете функционируют 4 Совета по защите докторских диссертаций.

В 2016 году по инициативе ректора университета создан Совет молодых ученых. За 4 года молодые ученые ВГМУ стали обладателями 10 стипендий Президента, лауреатами 9 премий Витебского областного исполнительного комитета талантливым молодым ученым.



В университете действует студенческое научное общество (СНО). Научные кружки функционируют при всех кафедрах. Ежегодно 1660 студентов принимают участие в научно-исследовательской работе. С 2015 года студентами ВГМУ на Республиканский конкурс студенческих научных работ подано 233 работы.

В ВГМУ издаются 4 научно-практических журнала. Журнал «Новости хирургии» включён в международную базу Scopus.

Для развития государственно-частного партнерства в сфере научных исследований и консолидации усилий фармацевтических компаний Витебской области по выводу на рынок инновационной продукции в августе 2015 года ВГМУ выступил одним из инициаторов создания первого медико-фармацевтического кластера в Республике Беларусь – Союза медицинских, фармацевтических и научно-образовательных орга-

низаций «Медицина и фармацевтика – инновационные проекты».

1 августа 2016 г. создано обособленное подразделение «Центр трансфера медицинских и фармацевтических технологий». Деятельность Центра направлена на коммерциализацию результатов научных исследований, развитие научно-технического сотрудничества и материально-технической базы университета.



7 октября 2016 года ВГМУ зарегистрирован в качестве субъекта инновационной инфраструктуры (в части деятельности обособленного подразделения «Центр трансфера медицинских и фармацевтических технологий»).

Лечебно-диагностическая работа профессорско-преподавательским составом УО «ВГМУ» осуществляется на клинических базах. С целью оптимизации специализированной медицинской помощи на базе 3-х клиник создано 8 научно-практических центров, которыми руководят профессора

и доценты университета: «Инфекция в хирургии»; «Хирургия заболеваний печени и поджелудочной железы», «Центр флебологии», «Хирургия тазового дна», «Колопроктологический центр», «Гемостазиология в кардиологии», гастроэнтерологический и офтальмологический центры.

Сотрудники клинических кафедр оказывают экстренную и плановую лечебную, консультативную и методическую помощь в учреждениях здравоохранения Витебской и Могилевской областей. На базе клиники ВГМУ работает профессорский центр, в котором ведущими профессорами и доцентами университета осуществляются консультативные приемы.

ВГМУ аккредитован в качестве международного эксперта в международной программе ранжирования университетов «Global World Communicator. Education and Science», является участником программы ECFMG (Educational Commission for Foreign Medical Graduates – Комиссия по образованию выпускников иностранных медицинских вузов) и зарегистрированным пользователем веб-портала медицинских учебных заведений ECFMG (EMSWP). ВГМУ является ассоциированным членом Всемирной Ассоциации медицинского образования (WFME), Евразийской Ассоциации Университетов (EAU), Международной Ассоциации медицинского образования (AMEE), Европейской Ассоциации Фармацевтических Факультетов (EAFP), Ассоциации медицинских учебных заведений в Европе (AMSE), сотрудничает со Всемирной организацией здравоохранения.

РАННЕЕ ПРОГРАММИРОВАНИЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НУТРИЦЕВТИКОВ С ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ЦЕЛЮ: ФОКУС НА РЫБИЙ ЖИР. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. ЧАСТЬ 2

БЕЛЯЕВА Л.Е., ПАВЛЮКЕВИЧ А.Н.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2019. – Том 18, №5. – С. 12-25.

THE EARLY PROGRAMMING OF HUMAN DISEASES AND THE APPLICATION OF NUTRACEUTICALS FOR THEIR PREVENTION: FOCUS ON FISH OIL. LITERATURE REVIEW. PART 2

BELYAEVA L.E., PAULIUKEVICH A.N.

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2019;18(5):12-25.

Резюме.

Во второй части обзора проанализированы и обсуждены результаты многочисленных экспериментальных, клинических и эпидемиологических исследований, посвященных изучению влияния нутрицевтиков, которые в своем составе содержат длинноцепочечные ω -3 полиненасыщенные жирные кислоты (ω -3 ПНЖК), на характер и особенности внутриутробного развития, а также эффекты, наблюдающиеся в разные периоды постнатального развития у организмов, родившихся у матерей, беременность которых протекала в неблагоприятных условиях. Рассматриваются также основные механизмы действия длинноцепочечных ω -3 ПНЖК, направленные на минимизацию последствий, обусловленных воздействием стрессоров в пренатальном периоде, посредством влияния этих нутрицевтиков на процесс воспаления, окислительный стресс, организацию структурных компонентов клетки, а также участия в эпигенетической регуляции экспрессии генов и программировании различных форм патологии в целом.

Ключевые слова: *омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты, пренатальный стресс, окислительный стресс, системное воспаление низкой интенсивности, липидные «raftы», кавеолы, эпигенетические механизмы.*

Abstract.

In the second part of this review the results of numerous experimental, clinical and epidemiological studies devoted to the influence of ω -3 polyunsaturated fatty acids (ω -3 PUFA)-containing nutraceuticals on the characteristic and peculiarities of intrauterine development and also the effects observed in different periods of postnatal development in organisms born by mothers whose pregnancy proceeded in adverse conditions have been analyzed and discussed. The main mechanisms of prenatal stress outcomes minimization with ω -3 PUFA by their influence on the inflammatory process, oxidative stress, organization of structural cell components as well as participation in epigenetic regulation of gene expression and various disorders programming as a whole are discussed.

Key words: *omega-3 polyunsaturated fatty acids, prenatal stress, oxidative stress, systemic low grade inflammation, lipid «rafts», caveolae, epigenetic mechanisms.*

1. Пренатальный стресс и противовоспалительное действие ω -3 ПНЖК, содержащихся в рыбьем жире

В настоящее время имеются убедительные

данные, свидетельствующие о том, что развитие беременности в неблагоприятных условиях (при нарушении баланса макронутриентов в пищевом рационе беременных, действии различных

стрессоров на материнский организм, заболеваний беременных и других влияниях, при которых нарушается постоянство внутренней среды организма беременной и развивается т.н. «алло-статическая нагрузка») сопровождается не только повышением уровня провоспалительных цитокинов и С-реактивного белка в материнском организме, но и увеличением содержания этих веществ в крови новорожденных [1, 2]. При беременности провоспалительные цитокины могут образовываться не только в материнском организме и организме плода, но и в плаценте [3]. Более высокая, чем при нормально протекающей беременности, интенсивность системного воспаления в материнском организме при ее развитии в неблагоприятных условиях способствует рождению маловесных детей [4] с высокой вероятностью развития у них различных форм патологии многих органов и систем организма [5-7]. Более того, развитие беременности в неблагоприятных условиях предрасполагает к стойкому нарушению регуляции интенсивности воспалительной реакции у организмов, перенесших пренатальный стресс. Так, в ходе масштабного и продолжительного исследования, выполненного на Филиппинах, было установлено, что каждый из нижеперечисленных факторов (низкий социально-экономический статус семьи в период планирования и рождения ребенка, рождение ребенка в неполной семье, проживание беременных в неблагоприятных санитарно-гигиенических условиях, рождение ребенка в сезон засухи, а, следовательно, в условиях неполного голодания матери во время беременности, непродолжительное грудное вскармливание) ассоциируется со специфическим, уникальным для каждого из факторов, изменением характера метилирования, по меньшей мере, десяти CpG-«островков» ДНК (в составе 9 генов), выделенной из лейкоцитов периферической крови у 20-22-летних детей этих матерей [8]. Продукты этих генов кодируют образование C1 компонента комплемента; веществ, вовлеченных в различные внутриклеточные сигнальные пути; регуляторов пролиферации клеток; провоспалительных цитокинов, Toll-like рецепторов, а также предшественника белка амилоида [8]. Таким образом, поиск способов снижения интенсивности воспаления в организме беременной женщины и ее ребенка при развитии беременности в неблагоприятных условиях представляется крайне актуальным.

Как известно, одну из ключевых ролей в образовании медиаторов воспаления играет ара-

хидоновая кислота – омега-6 полиненасыщенная жирная кислота (ω -6 ПНЖК). При метаболизме арахидоновой кислоты циклооксигеназами (ЦОГ) образуются простагоиды 2-го класса и лейкотриены 4-го класса, обладающие провоспалительным и протромбогенным потенциалом. Так, простагландины (Pg) E_2 и $E_{2\alpha}$ увеличивают продукцию интерлейкина-6 и хемоаттрактантов, активируют нейтрофилы и стимулируют продукцию активных форм кислорода (АФК). Тромбоксан A_2 , образующийся из арахидоновой кислоты при участии ЦОГ, обладает вазоконстрикторным и проагрегантным действием. Кроме этого, арахидоновая кислота активирует NADPH-оксидазный комплекс нейтрофилов, эозинофилов, макрофагов, что сопровождается образованием супероксидного радикала; вызывает активацию ядерного фактора транскрипции NF-kB, инициирующего и поддерживающего развитие воспаления. В организме эйкозапентаеновая (ЭПК) и докозагексаеновая (ДГК) кислоты могут вступать в конкурентные взаимоотношения с арахидоновой кислотой и при их метаболизме по циклооксигеназному пути с участием ацетилированной ЦОГ-2 образуются метаболиты со слабым провоспалительным и вазоконстрикторным потенциалом (простагоиды 3-го класса и лейкотриены 5-го класса). Противовоспалительное действие ω -3 ПНЖК, в том числе, опосредовано подавлением экспрессии NF-kB [9], что сопровождается уменьшением выработки провоспалительных цитокинов, например, ФНО- α , интерлейкина-1 β , интерлейкина-6 [10]. Образованные с участием липоксигеназы метаболиты ЭПК и ДГК – резолвины, марезины, протектины – стимулируют разрешение воспаления: снижают инфильтрацию ткани нейтрофилами и дендритными клетками, уменьшают выработку хемоаттрактантов и провоспалительных цитокинов, ингибируют образование АФК, стимулируют эффероцитоз [11]. Помимо этого, ЭПК и ДГК способны активировать PPAR- γ (Peroxisome proliferator-activated receptors), которые подавляют экспрессию генов, кодирующих многие медиаторы воспаления. Кроме того, в этих условиях снижается образование АФК, предотвращается развитие дисфункции эндотелия и тромбоза [12]. Вполне обоснована рекомендация увеличения соотношения ω -3 ПНЖК к ω -6 ПНЖК в рационе (оптимально 5/1 или 10/1, соответственно [13]), так как преобладание ω -6 ПНЖК в диете способствует поддержанию в организме системного воспаления низкой интенсивности, которое при-

нято считать своеобразной «болезнью цивилизации» [14].

Имеются доказательства того, что введение рыбьего жира, содержащего ЭПК и ДГК, в организм беременной может снижать интенсивность системного воспаления в материнском организме и в организме плода. Так, в ряде экспериментальных исследований было показано, что ПНЖК, содержащиеся в рыбьем жире, способны подавлять воспаление в плаценте [15] и в организме потомства, в том числе и в постнатальном периоде [16]. В ходе рандомизированного, двойного слепого, плацебо-контролируемого исследования, выполненного в Австралии, было обнаружено, что концентрация резолвинов, медиаторов, способствующих разрешению воспаления (RvE1, RvE2, RvE3, RvD1, 17-RRvD1, RvD2), выше в мембранах эритроцитов, выделенных из пуповинной крови новорожденных, матери которых с 20-й недели беременности до родов принимали ежедневно 1 капсулу, содержащую 4 г рыбьего жира (или 3,7 г ω -3 ПНЖК, в т.ч. 56,0% ДГК и 27,7% ЭПК), по сравнению с таковой, обнаруженной в эритроцитах новорожденных, матери которых во время беременности получали плацебо [17]. Однако к 12-летнему возрасту таких различий в содержании резолвинов в мембранах эритроцитов, полученных из периферической крови детей, родившихся у матерей, получавших рыбий жир или плацебо, уже не было обнаружено, что вполне объяснимо. Опубликованные еще ранее результаты мультицентрового рандомизированного исследования свидетельствуют о том, что потребление беременными рыбьего жира в гораздо меньших количествах (0,5 г ДГК+0,15 ЭПК/сут.) во второй половине беременности сопровождается уменьшением содержания в пуповинной крови новорожденных мРНК ИЛ-4, ИЛ-13 и CCR4, т.е. цитокинов и рецептора к хемокину, усиление образования которых наблюдается при поляризации иммунного ответа, обусловленного доминированием Th2 [18], что обосновывает целесообразность приема беременными женщинами рыбьего жира для предотвращения развития атопии и подавления аллергического воспаления у их детей, особенно с генетической предрасположенностью к развитию атопических заболеваний.

2. Окислительный стресс, пренатальное программирование и ω -3 ПНЖК

Кратко охарактеризуем роль АФК, образующихся в организме в пренатальном периоде

[19]. В ранние сроки онтогенеза эмбрион особо чувствителен к действию оксидантов, поскольку до начала формирования плаценты зародыш находится в среде с относительно невысоким содержанием кислорода. Развитие плаценты сопровождается повышением образования АФК, выполняющих функцию сигнальных молекул и регулирующих экспрессию генов, продукты которых необходимы для функционирования хеморецепторов, а также для регуляции процессов пролиферации и дифференцировки клеток. Повышение продукции АФК сопровождается изменением редокс-состояния клеток организма плода. Более того, при нарушении развития беременности в организме беременной и плода развивается окислительный стресс, характеризующийся нарушением баланса между оксидантами и антиоксидантами [20]. Факт наличия окислительного стресса в этих условиях подтверждается обнаружением повышенных концентраций продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и снижением содержания ферментных и неферментных антиоксидантов в крови и клетках матери и плода [21, 22]. Доказано, что АФК вовлечены в механизмы раннего программирования различных форм патологии, главным образом, благодаря их влиянию на редокс-состояние клеток и эпигенетические механизмы регуляции активности генов [19].

Как в экспериментальных, так и в клинических исследованиях показано, что ω -3 ПНЖК, содержащиеся в рыбьем жире, потенциально способны уменьшить выраженность окислительного стресса как в материнском организме, так и в организме плода и нивелировать тем самым негативные последствия действия неблагоприятных факторов. Так, введение рыбьего жира в организм крыс с экспериментальной дислипидемией во время беременности и лактации сопровождалось восстановлением сниженной активности антиоксидантных ферментов (каталазы, супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы и глутатионтрансферазы) у их потомства, наряду со снижением содержания в крови их потомства маркеров окислительного стресса [23]. Ежедневное потребление беременными женщинами 400 мг смеси ДГК+ЭПК, которой были обогащены напитки на основе молока, приводило к уменьшению содержания гидроперекисей липидов не только в их организме, но и в пуповинной крови новорожденных. Во время лактации женщины продолжали прием этих ω -3 ПНЖК. Не только у новорожденных, но и у этих детей в возрасте

2,5 месяцев в крови было обнаружено статистически значимое снижение уровня гидроперексидов липидов, наряду с повышением содержания витамина Е, коэнзима Q10, СОД и каталазы, по сравнению с показателями, зарегистрированными у детей аналогичного возраста, родившихся у женщин контрольной группы, которые получали эквивалентное количество молочного питания без добавления этих ω -3 ПНЖК [24]. Ежедневное потребление беременными женщинами, страдающими атопическими заболеваниями, 4 г рыбьего жира, начиная с 20-й недели беременности и до ее завершения, приводило к достоверному уменьшению содержания F2-изопропанов в пуповинной крови их новорожденных детей [25], что подтверждает способность рыбьего жира, поступающего в материнский организм, подавлять интенсивность ПОЛ в организме их детей.

3. ω -3 ПНЖК как структурные элементы клеток

В последние десятилетия представления о биологических мембранах, имеющих двойной фосфолипидный слой со встроенными белками, способными перемещаться в пределах латеральной диффузии [26], были дополнены концепцией о компартиментализации липидных компонентов мембраны в микродомены, или липидные «raftы», или «плоты» (lipid rafts, англ.) [27]. В составе липидных «плотов» выделяются участки, устойчивые к действию детергентов в силу сосредоточения в них липидов с гидрофобными свойствами, в частности гликофинголипидов и холестерина. Качественный и количественный состав липидных «raft» регулирует жидкостные свойства мембран, процессы перемещения белков в мембранах; «raftы» являются местом скопления внутриклеточных сигнальных молекул, которые при активации существенным образом влияют на фенотипические свойства клеток [28]. В клеточных мембранах имеются плоскостные липидные «raftы» и кавеолы – углубления клеточной мембраны диаметром 50-100 нм, в состав которых, помимо липидов, входят белки семейства кавеолинов. Эти белки участвуют в процессах эндоцитоза и транцитоза; распознавания действующих на клетки механических сигналов; ремоделирования внеклеточного матрикса; синтеза холестерина; регуляции миграции клеток при органогенезе; передачи внутриклеточных биохимических сигналов; регенерации клеток и поддержания численности клеточных популяций [29].

В процессе эмбрионального и фетального развития, пожалуй, наиболее хорошо изучены липидные «raftы» в нейронах. Высокая скорость пролиферации нейрональных стволовых клеток, их последующая дифференцировка в нейроны требует высокой пластичности мембран этих клеток и их координированного ответа на действие факторов роста, гормонов и многочисленных биологически активных веществ, регулирующих нейрогенез. В развивающихся стволовых клетках в липидных «raftах» мембран нейронов обнаруживается преимущественно гликофинголипид ганглиозид GD3, который обеспечивает оптимальный ответ нейрональных стволовых клеток на действие эпидермального фактора роста. Впоследствии ганглиозид GD3 заменяется ганглиозидами группы GM1, что совпадает по времени с процессами дифференцировки нервных клеток и ростом нейритов под действием фактора роста нервов. Доказано, что эти специфические ганглиозиды посредством изменения степени ацетилирования гистонов влияют на активность целого ряда генов, продукты которых вовлечены в процессы нейрогенеза [30]. К сожалению, экспериментальных работ, посвященных изучению особенностей липидных «raft» в мембранах клеток потомства, матери которых перенесли действие стрессоров во время беременности, крайне мало, однако приведем результаты некоторых из них. Показано, что низкое потребление ω -3 ПНЖК с пищей беременными крысами изменяет соотношение фосфолипидов 20:4n-6 и 22:6n-3 в синаптических мембранах их потомства в возрасте 5 недель [31]. При содержании беременных крыс на высокожировой диете у их потомства в мембранах гепатоцитов увеличивается содержание церамидов [32].

В контексте сказанного использование ДГК и ЭПК в качестве средства, изменяющего состав липидных «raft» в мембранах потомства, родившегося от матерей с нарушениями содержания жирных кислот в рационе, а возможно, и при влиянии на организм беременных и других неблагоприятных факторов, весьма перспективно, так как эти ω -3 ПНЖК способны встраиваться в мембраны клеток. Так, было показано, что добавление ω -3 ПНЖК в рацион беременных хомяков-самок предупреждает изменения в организме их потомства-самцов, обусловленные их содержанием на высокожировой диете в течение 4 месяцев: в мембранах гепатоцитов снижается содержание C20 церамида и лактозилцерамида,

а также уменьшается концентрация сфинганина и лактозилцерамида в мышцах, наряду с уменьшением выраженности у таких животных гипертриглицеридемии и гипергликемии [33]. В другой экспериментальной модели было показано, что потребление беременными крысами пищи, обогащенной ω -3 ПНЖК, начиная со 2-го дня беременности, способствует повышению устойчивости нейронов их плодов к ишемическому повреждению благодаря увеличению содержания в мембранах нейронов фосфатидилсерина с последующей активацией фосфатидил-инозитол-3-киназы, протеинкиназы Akt и связанных с ней киназ, благодаря чему и реализуется нейротекторный эффект ω -3 ПНЖК [34]. Кроме того, в эксперименте, выполненном *in vitro*, выявлено уменьшение неврологического дефицита после экспериментального ишемического повреждения мозга у 7-дневных крысят, матери которых получали пищу с повышенным содержанием в ней ω -3 ПНЖК. Сравнительно недавно раскрыт еще один важный механизм действия ДГК на фенотипические свойства клеток. Взаимодействуя со сфингомиелином в составе липидных «рафт», ДГК образует 1-пальмитоил-2-докозагексаеноилфосфатилхолин, который увеличивает размеры рафтоподобных доменов в клеточных мембранах с последующим изменением компарментализации регуляторных белков в составе этих «плотов» [35].

Белкам кавеолинам также принадлежит важная роль в эмбриогенезе. Экспрессия м-РНК кавеолинов у эмбрионов мышей появляется, начиная с 7-го дня эмбрионального развития [29]. При развитии беременности в неблагоприятных условиях в мембранах клеток плодов содержание этих белков изменяется. В частности, воздействие на организм беременных крыс токсичного нитрофена приводит к рождению потомства с врожденной диафрагмальной грыжей и легочной артериальной гипертензией, обусловленными нарушением экспрессии гена кавеолина-1 в легких [36]. Содержание беременных мышей на высокожировой диете приводит к развитию ожирения у потомства, при котором повышается экспрессия генов, кодирующих белки кавеол адипоцитов [37]. Описаны также различные посттрансляционные модификации кавеолина-1, например, фосфорилирование, в эндотелиальных клетках плацентарных артерий под воздействием пероксида водорода, с последующей дезорганизацией филаментов актина в эндотелиальных клетках

[38]. Поскольку активность эндотелиальной NO-синтазы зависит от связи с кавеолином-1, можно полагать, что изменение структуры и функции кавеолина-1 в условиях окислительного стресса может способствовать нарушению маточно-плацентарного кровотока, которое в настоящее время считается важным механизмом раннего программирования различных форм патологии при развитии беременности в неблагоприятных условиях. Несмотря на то, что способность ω -3 ПНЖК модулировать свойства кавеолина-1 и связанных с ним ферментов хорошо известна [39], исследований, демонстрирующих подобные изменения у потомства, матери которых получали эти ПНЖК во время беременности, нет.

Обсуждая вопросы структурной организации мембран, нельзя обойти вниманием внеклеточные везикулы, которые обнаружены во всех биологических жидкостях. К внеклеточным везикулам относятся экзосомы, микровезикулы и апоптотические тельца, отличающиеся размерами, механизмами образования и свойствами. Показано, что при беременности экзосомы и микровезикулы образуются как клетками эндометрия, так и клетками зародыша, причем липидные «рафты», богатые холестерином, – наилучшие места для формирования микровезикул и их «слищивания» с поверхности клеточных мембран. В процессе внутриутробного развития внеклеточные везикулы выполняют транспортную функцию, выступают в роли вторичных мессенджеров при передаче биохимических сигналов, благодаря наличию в них микро-РНК участвуют в «переносе» генетической информации (от матери к зародышу и обратно), участвуют в процессе ремоделирования спиральных артерий и плацтации, поддерживают фазовый характер провоспалительного и противовоспалительного микроокружения в эндометрии в процессе развития беременности [40].

При патологии развития беременности количество микрочастиц и их активность существенно изменяются. Так, в крови беременных женщин с диагностированным синдромом задержки внутриутробного развития плода повышается общее количество микрочастиц [41], а в крови женщин с преэклампсией – количество микрочастиц лейкоцитарного и эндотелиоцитарного происхождения [42]. Установлено, что экзосомы, выделяющиеся клетками жировой ткани у матерей с ожирением и гестационным сахарным диабетом, способны изменять экспрессию генов,

кодирующих гликолитические ферменты и ферменты глюконеогенеза в клетках плаценты [43], а значит, влиять на доступность макронутриентов для организма плода, нарушение которой может выступить в качестве одной из причин раннего программирования различных форм патологии.

Несмотря на то, что отсутствуют данные о влиянии компонентов рыбьего жира, вводимого в организм беременных при ее развитии в неблагоприятных условиях, на количество и активность микрочастиц, логично предположить, что дополнительное введение в материнский организм длинноцепочечных полиненасыщенных жирных кислот будет способствовать изменению образования внеклеточных везикул в организме матери и плода. Такое предположение основано на следующих фактах: (1) потребление 1,5 г в сутки длинноцепочечных ω -3 ПНЖК пациентами с высоким риском сердечно-сосудистых заболеваний в течение 2 месяцев сопровождалось уменьшением содержания в их крови микрочастиц эндотелиоцитарного происхождения [44], что свидетельствует об уменьшении интенсивности активации эндотелиоцитов под влиянием этих ПНЖК; (2) под влиянием даже однократного приема преимущественно ЭПК, но не ДГК выявлено снижение активности микрочастиц тромбоцитарного происхождения у здоровых добровольцев, причем выраженность снижения этой активности была большей у женщин, по сравнению с таковой у мужчин [45].

4. Влияние ω -3 ПНЖК на эпигенетические механизмы

Дополнительное введение рыбьего жира в организм во время беременности способно индуцировать появление «эпигенетических меток» у потомства (табл. 1).

5. Эффекты ω -3 ПНЖК, вводимых в организм беременных, выявляемые на организменном уровне у потомства

Анализ результатов рандомизированных контролируемых исследований показал, что прием ω -3 ПНЖК беременными женщинами приводит к уменьшению количества преждевременных родов, в т.ч. ранних преждевременных родов; у беременных реже развивалась преэклампсия, уменьшался процент рождения маловесных детей и снижалась перинатальная смертность [53]. Увеличение содержания ω -3 ПНЖК в крови женщин с субфертильностью всего на 1% способствует повышению вероятности наступления

беременности и рождения живого ребенка на 8% [54]. Особенно эффективное влияние ЭПК и ДГК оказывают на ЦНС и сердечно-сосудистую систему потомства.

Доказано, что потребность плода в ДГК возрастает на протяжении третьего триместра внутриутробного развития, так как в это время происходит быстрое развитие мозга, а также сетчатки глаза [55]. Выявлена важная роль ДГК в процессах синаптогенеза и миелинизации [56], нейрогенеза и олигодендрогенеза [57]. Дефицит ДГК в рационе самок во время беременности отражается на поведении их потомства, что проявляется повышенной тревожностью, нарушением обучения и снижением исследовательской активности на новой местности такого потомства [58]. Следствиями недостаточного потребления ω -3 ПНЖК женщинами во время беременности являются: преждевременные роды, рождение детей с массой тела менее 2,5 кг, нарушения когнитивных функций и развития сетчатки, а также признаки иммунодефицита у их детей [59].

В контексте сказанного не могут не вызывать опасения данные о низком потреблении ω -3 ПНЖК беременными женщинами. Исследование, выполненное в Польше, свидетельствует о крайне низком уровне потребления рыбы беременными женщинами (в среднем 15 г/сут.). В результате 92% опрошенных беременных женщин потребляют ДГК в дозе менее 200 мг/сут., причем нутрицевтические препараты, содержащие ДГК, принимает лишь 28% беременных женщин [60]. Сходные результаты были получены и во Франции [61]: беременные женщины получали ДГК в 4 раза ниже рекомендуемой суточной дозы – 200–300 мг/сут. ДГК или 500 мг/сут. ЭПК+ДГК [62].

В эксперименте показано, что введение ДГК в организм беременных мышей-гетерозигот с нокаутированным геном, кодирующим белок-переносчик серотонина, и вследствие этого высокочувствительных к стрессу, существенным образом снижало повышенное содержание дофамина в полосатом теле потомства и предупреждало аутистично-подобное поведение такого пренатально стрессированного потомства-самцов [63]. Еще одной моделью для изучения раннего программирования нарушений поведения у потомства, кстати, в результате нарушения эпигенетических механизмов, является введение беременным самкам животных вальпроата натрия, ингибитора гистоновой деацетилазы 4 (HDAC4), что приводит к нарушению поведения потомства.

Таблица 1 – Сведения о характере влияния ω -3 ПНЖК на степень метилирования ДНК, модификации белков-гистонов и количество специфических микро-РНК в клетках потомства, матери которых получали эти жирные кислоты во время беременности

Механизмы эпигенетической регуляции активности генов	Влияние употребления ω -3 ПНЖК беременными на «эпигенетические метки» их потомства
Метилирование ДНК	<p>При увеличении содержания в рационе беременных мышей ω-3 ПНЖК наблюдается гиперметилирование ДНК в промоторной зоне гена PPARG2, что коррелирует со снижением активности этого гена и уменьшением развития жировой ткани 14-дневного потомства [46].</p> <p>Дефицит ω-3 ПНЖК в рационе беременных мышей ассоциируется с гипометилированием ДНК в области специфических CpG-островков и низким уровнем экспрессии мозгового нейротрофического фактора (BDNF) в клетках гиппокампа их 2-месячного потомства, причем добавление ω-3 ПНЖК в рацион потомства не устраняет следствий дефицита этих жирных кислот в пренатальном периоде [47].</p> <p>Обогащение рациона беременных свиней ЭПК и ДГК сопровождается гипометилированием ДНК 4-й хромосомы и гиперметилированием ДНК межгенных пространств, в которых сосредоточены регуляторные элементы ДНК, 4-й и 12-й хромосом в лейкоцитах, выделенных из крови их 8-недельного потомства [48].</p> <p>Введение 400 мг/сут. ДГК с 18-22 нед. беременности женщинам до рождения ребенка приводит к увеличению метилирования ДНК в промоторной области 3 гена инсулиноподобного фактора роста-2 (ИФР-2, IGF2 P3) и снижению метилирования дифференциально метилированных регионов ДНК в области кластера IGF2/H19 в мононуклеарных клетках, выделенных из пуповинной крови новорожденных [49].</p> <p>Эти изменения могут привести к снижению концентрации ИФР-2 как в организме беременных, так и их детей, что может предупредить развитие макросомии у детей, снизить риск развития у них не только сахарного диабета 2-го типа, но и злокачественных новообразований различных локализаций.</p> <p>Потребление 800 мг в сутки ДГК и 100 мг ЭПК женщинами с 20-й недели беременности и до родов не приводит к глобальному, статистически значимому изменению степени метилирования ДНК лейкоцитов, выделенных из пуповинной крови новорожденных и лейкоцитов периферической крови их детей в 5-летнем возрасте. В лейкоцитах новорожденных детей, матери которых получали ДГК, выявлено наличие 21 участка дифференциально метилированной ДНК, причем некоторая часть этих изменений выявляется и у 5-летних детей, преимущественно мальчиков [50].</p>
Химические модификации белков-гистонов	<p>Введение рыбьего жира женщинам во время беременности приводит к повышению степени ацетилирования гистона H3 в промоторной области гена протеинкиназы C-ζ (PKCζ) и, наоборот, снижению ацетилирования гистонов H3 и H4 в промоторной области гена ИЛ-13 в Т-лимфоцитах, выделенных из пуповинной крови новорожденных [51]. Повышение активности гена PKCζ и увеличение образования в лимфоцитах этого фермента являются ключевым механизмом, определяющим смену поляризации иммунного ответа от преобладания Th2 у плодов и новорожденных в пользу преобладания Th1 в постнатальном периоде, что, наряду с уменьшением активности гена ИЛ-13, объясняет снижение риска развития atopических заболеваний у детей, матери которых употребляли рекомендуемое количество ω-3 ПНЖК во время беременности.</p>
Содержание малых не кодирующих РНК	<p>Введение рыбьего жира в организм беременных крыс с 1-го по 12-й дни беременности приводит к увеличению содержания в клетках печени 1-дневного потомства miR-215 и снижению содержания miR-192, miR-10b-5p, miR-377-3p в гепатоцитах 12-месячного потомства [52], причем последние 3 из них регулируют образование ингибитора активатора плазминогена-1 и инсулиноподобного фактора роста-2. Данные свидетельствуют о возможном снижении риска развития инсулинорезистентности у половозрелых крыс, матери которых получали рыбий жир во время беременности.</p>

Под влиянием ДГК, которую получали крысы в течение всей беременности на фоне введения вальпроата натрия, у их потомства не только повышалась способность к обучению и запоминанию стереотипных действий, но также снижалась выраженность окислительного стресса в гипоталамусе, с последующим уменьшением в нем количества клеток, погибающих в результате апоптоза [64].

К настоящему времени опубликованы результаты нескольких клинических исследований, посвященных изучению эффективности использования рыбьего жира или его важнейших компонентов – ДГК и ЭПК во время беременности на показатели нервно-психического развития детей этих матерей. В одном из них, включавшем 341 женщину, часть из которых, начиная с 18-й недели беременности и в течение 3 месяцев грудного вскармливания получали либо 10 г/сут. рыбьего жира, либо 10 г/сут. кукурузного масла, богатого олеиновой кислотой, было показано, что в 4-летнем возрасте IQ детей, матери которых получали рыбий жир, составил 106,4 пункта против 102,3 пунктов у детей, матери которых употребляли кукурузное масло ($p < 0,05$) [65], причем к 7-летнему возрасту таких отличий уже не было зарегистрировано. Заслуживают интереса результаты еще одного рандомизированного исследования, участниками которого стали 64 беременные женщины-афроамериканки, срок беременности которых составлял 16-21 нед., с низким уровнем дохода, проживающих в Питтсбурге. В течение 6 недель часть из них ежедневно получала капсулы, содержащие ω -3 ПНЖК (в т.ч. 450 мг ДГК, и 90 мг ЭПК), другая часть (группа плацебо) – капсулы аналогичной формы и размера, содержащие эквивалентный объем соевого масла. Результаты показали, что масса тела новорожденных, матери которых получали рыбий жир, составляла в среднем 3174 г против 2890 г у детей, родившихся у женщин, получавших плацебо ($p = 0,018$); кроме того, на 1-й минуте после рождения оценка «9» по шкале Апгар была выставлена 75,8% новорожденных 1-й группы, в то время как только 59,1% новорожденных, матери которых получали во время беременности плацебо, имели такую же оценку. Однако наиболее важные результаты были получены спустя 3 месяца, когда был проведен тест «Face-to-Face Still Face paradigm», в ходе которого 2-минутный эпизод игры матерей с детьми сменяется 2-минутным периодом времени, в течение которого матери сохраняют

лицо «застывшим», с последующим эпизодом «воссоединения», что позволяет, в том числе, оценить индивидуальные различия в поведенческих стресс-реакциях младенцев. Исследование уровня кортизола в слюне младенцев после теста показало, что на 20-й и 45-й минутах после него этот уровень статистически значимо был ниже у детей, матери которых получали во время беременности ω -3 ПНЖК [66], то есть рыбий жир вполне способен изменять стресс-реактивность детей, матери которых получали его во время беременности.

Имеются работы, в которых показана эффективность влияния рыбьего жира, вводимого в организм беременных, на функционирование сердечно-сосудистой системы их потомства. Так, внутрижелудочное введение препарата «Эпадол», в 0,5 мл которого содержится по 200 мг ЭПК и ДГК, а также 0,1% раствора токоферола ацетата из расчета 0,1 мл / 100 г крысам за 1 неделю и в течение последующей беременности [67], приводило к тому, что в кардиомиоцитах (КМЦ), выделенных из организмов их 2-3 дневного новорожденного потомства, было статистически значимо увеличено содержание мРНК генов, кодирующих белок-переносчик жирных кислот, естественный антагонист ИЛ-1 ИЛ-1R α , белок коннексин 43, участвующий в образовании щелевых контактов между кардиомиоцитами и в процессах электрического ремоделирования миокарда, а также мРНК антиапоптотического белка Bcl-2. При аноксии культуры КМЦ с последующей их реоксигенацией в этих клетках, выделенных из организмов потомства, матери которых получали рыбий жир во время беременности, количество КМЦ, погибших вследствие некроза и апоптоза, было значительно меньше, чем в подвергнутой аноксии/реоксигенации культуре КМЦ потомства, матери которых не получали ω -3 ПНЖК во время беременности. Эти данные свидетельствуют о способности ДГК и ЭПК, поступающих в организм в пренатальном периоде, существенным образом снижать чувствительность КМЦ к действию патогенов, по крайней мере, в раннем неонатальном периоде.

В исследовании, выполненном в Великобритании и включившем 234 ребенка в возрасте 9 лет, было установлено, что потребление их матерями рыбьего жира во время беременности коррелирует с низкой скоростью распространения пульсовой волны (СРПВ) у детей, что свидетельствует о более низкой «жесткости» артериальных

сосудов у них [68]. Как известно, увеличение жесткости артериальных сосудов ассоциируется с повышением артериального давления и обнаружение повышенной СРПВ может предшествовать развитию целого ряда неблагоприятных сердечно-сосудистых событий. Эти данные еще раз свидетельствуют о снижении интенсивности воспаления в сосудистой стенке организмов, получавших дополнительные количества ω -3 ПНЖК еще в пренатальном периоде. Однако в ходе рандомизированного исследования, начавшегося в Германии в 1990 г. и закончившегося спустя 19 лет, у 18-19-летних молодых людей, матери которых употребляли 2,7 г рыбьего жира ежедневно, начиная с 30-й недели беременности и до момента родов, не было выявлено достоверных отличий в величинах артериального давления, ЧСС и вариабельности сердечного ритма [69].

Следует отметить тот факт, что в ряде работ статистически значимых изменений изучаемых параметров при применении рыбьего жира выявлено не было. Это может быть связано как с разными дозировками ЭПК и ДГК, так и с неоднородностью источников этих полиненасыщенных жирных кислот (высококачественные добавки ω -3 ПНЖК или морепродукты животного происхождения), различной продолжительностью введения ЭПК и ДГК, взаимодействием с другими полиненасыщенными жирными кислотами. Некоторые исследователи указывают даже на негативное действие добавок, содержащих ЭПК и ДГК, обусловленное тем, что они в своей структуре содержат несколько двойных связей и могут подвергаться окислению. Однако в современных условиях окисление ω -3 ПНЖК предотвращается микрокапсулированием рыбьего жира, содержащего ЭПК и ДГК [70]. Вариации в исходной активности генов, отвечающих за метаболизм липидов, также могут быть причиной различного эффекта от приема ω -3 ПНЖК.

Заключение

Анализ результатов экспериментальных и клинических исследований позволяет сделать вывод о способности ω -3 ПНЖК существенным образом модулировать процессы внутриутробного развития организмов и вызывать в постнатальном периоде стойкие положительные эффекты различной продолжительности и выраженности у потомства различного пола, что указывает на целесообразность изучения вопроса использо-

вания нутрицевтиков на основе рыбьего жира в качестве одного из способов минимизации последствий пренатального стресса.

Литература

1. Low-grade, systemic inflammation in adolescents: association with early-life factors, gender, and lifestyle / J. Pirkola [et al.] // *Am. J. Epidemiol.* – 2010 Jan. – Vol. 171, N 1. – P. 72–82.
2. Prenatal and early postnatal stress and later life inflammation / J. M. Pedersen [et al.] // *Psychoneuroendocrinology.* – 2018 Feb. – Vol. 88. – P. 158–166.
3. Staud, F. Trophoblast: The central unit of fetal growth, protection and programming / F. Staud, R. Karahoda // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* – 2018 Dec. – Vol. 105. – P. 35–40.
4. Maternal pregnancy C-reactive protein predicts offspring birth size and body composition in metropolitan Cebu, Philippines / C. W. Kuzawa [et al.] // *J. Dev. Orig. Health. Dis.* – 2017 Dec. – Vol. 8, N 6. – P. 674–681.
5. Up-regulation of renal renin-angiotensin system and inflammatory mechanisms in the prenatal programming by low-protein diet: beneficial effect of the post-weaning losartan treatment / I. K. M. Watanabe [et al.] // *J. Dev. Orig. Health Dis.* – 2018 Oct. – Vol. 9, N 5. – P. 530–535.
6. Epigenetics and preeclampsia: programming of future outcomes / A. B. Peixoto [et al.] // *Methods Mol. Biol.* – 2018. – Vol. 1710. – P. 73–83.
7. Poor maternal nutrition and accelerated postnatal growth induces an accelerated aging phenotype and oxidative stress in skeletal muscle of male rats / J. L. Tarry-Adkins [et al.] // *Dis. Model Mech.* – 2016 Oct. – Vol. 9, N 10. – P. 1221–1229.
8. Social and physical environments early in development predict DNA methylation of inflammatory genes in young adulthood / T. W. McDade [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2017 Jul. – Vol. 114, N 29. – P. 7611–7616.
9. Fish-oil supplementation induces antiinflammatory gene expression profiles in human blood mononuclear cells / M. Bouwens [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2009 Aug. – Vol. 90, N 2. – P. 415–424.
10. Sigal, L. H. Basic science for the clinician 39: NF-kappa B-function, activation, control, and consequences / L. H. Sigal // *J. Clin. Rheumatol.* – 2006 Aug. – Vol. 12, N 4. – P. 207–211.
11. Serhan, C. N. Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology / C. N. Serhan // *Nature.* – 2014 Jun. – Vol. 510, N 7503. – P. 92–101.
12. Grygiel-Gyrniak, B. Peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands: nutritional and clinical implications – a review / B. Grygiel-Gyrniak // *Nutr. J.* – 2014 Feb. – Vol. 13. – P. 17.
13. Abedi, E. Long-chain polyunsaturated fatty acid sources and evaluation of their nutritional and functional properties / E. Abedi, M. A. Sahari // *Food Sci. Nutr.* – 2014 Sep. – Vol. 2, N 5. – P. 443–463.
14. Haast, R. A. Impact of fatty acids on brain circulation, structure and function / R. A. Haast, A. J. Kilian // *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* – 2015 Jan. – Vol. 92. – P. 3–14.
15. Omega-3 fatty acids suppress *Fusobacterium nucleatum*-induced placental inflammation originating from maternal

- endothelial cells / J. Garcia-So [et al.] // JCI Insight. – 2019 Feb. – Vol. 4, N 3. – pii: 125436.
16. Maternal and postnatal supplementation of fish oil improves metabolic health of mouse male offspring / L. Ramalingam [et al.] // Obesity (Silver Spring). – 2018 Nov. – Vol. 26, N 11. – P. 1740–1748.
17. Effects of prenatal n-3 fatty acid supplementation on offspring resolvins at birth and 12 years of age: a double-blind, randomised controlled clinical trial / V. H. L. See [et al.] // Br. J. Nutr. – 2017 Dec. – Vol. 118, N 11. – P. 971–980.
18. Decreased cord blood IL-4, IL-13, and CCR4 and increased TGF-beta levels after fish oil supplementation of pregnant women / S. Krauss-Etschmann [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2008 Feb. – Vol. 121, N 2. – P. 464–470.
19. Thompson, L. P. Impact of oxidative stress in fetal programming / L. P. Thompson, Y. Al-Hazan // J. Pregnancy. – 2012. – Vol. 2012. – P. 582748.
20. Schafer, F. Q. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple / F. Q. Schafer, G. R. Buettner // Free Radic. Biol. Med. – 2001 Jun. – Vol. 30, N 11. – P. 1191–1212.
21. Association between prenatal psychological stress and oxidative stress during pregnancy // S. M. Eick [et al.] // Paediatr. Perinat. Epidemiol. – 2018 Jul. – Vol. 32, N 4. – P. 318–326.
22. Mitochondrial dysfunction: maternal protein restriction as a trigger of reactive species overproduction and brainstem energy failure in male offspring brainstem / D. J. S. Ferreira [et al.] // Nutr. Neurosci. – 2018 Mar. – P. 1–11.
23. Ramaian, B. Dietary omega-3 but not omega-6 fatty acids down-regulate maternal dyslipidemia induced oxidative stress: a three generation study in rats // B. Ramaian, S. Bettadahalli, R. R. Talahalli // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2016 Sep. – Vol. 477, N 4. – P. 887–894.
24. Omega-3 LCPUFA supplement: a nutritional strategy to prevent maternal and neonatal oxidative stress / N. Kajarabille [et al.] // Matern. Child Nutr. – 2017 Apr. – Vol. 13, N 2.
25. Fish oil supplementation in pregnancy lowers F2-isoprostanes in neonates at high risk of atopy / A. E. Barden [et al.] // Free Radic. Res. – 2004 Mar. – Vol. 38, N 3. – P. 233–239.
26. Singer, S. J. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes / S. J. Singer, G. L. Nicolson // Science. – 1972 Feb. – Vol. 175, N 4023. – P. 720–731.
27. The concept of lipid domains in membranes / M. J. Karnovsky [et al.] // J. Cell. Biol. – 1982 Jul. – Vol. 94, N 1. – P. 1–6.
28. Sonnino, S. Membrane domains and the «lipid raft» concept / S. Sonnino, A. Prinetti // Curr. Med. Chem. – 2013. – Vol. 20, N 1. – P. 4–21.
29. Sohn, J. From embryonic development to human diseases: the functional role of caveolae/caveolin / J. Sohn, R. M. Brick, R. S. Tuan // Birth Defects Res. C. Embryo Today. – 2016 Mar. – Vol. 108, N 1. – P. 45–64.
30. Itokazu, Y. Epigenetic regulation of ganglioside expression in neural stem cells and neuronal cells / Y. Itokazu, Y. T. Tsai, R. K. Yu // Glycoconj. J. – 2017 Dec. – Vol. 34, N 6. – P. 749–756.
31. Bowen, R. A. Dietary low linolenic acid compared with docosahexaenoic acid alter synaptic plasma membrane phospholipid fatty acid composition and sodium-potassium ATPase kinetics in developing rats / R. A. Bowen, M. T. Clandinin // J. Neurochem. – 2002 Nov. – Vol. 83, N 4. – P. 764–774.
32. Early PQQ supplementation has persistent long-term protective effects on developmental programming of hepatic lipotoxicity and inflammation in obese mice / K. R. Jonscher [et al.] // FASEB J. – 2017 Apr. – Vol. 31, N 4. – P. 1434–1448.
33. Direct and maternal n-3 long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation improved triglyceridemia and glycemia through the regulation of hepatic and muscle sphingolipid synthesis in offspring hamsters fed a high-fat diet / F. Kasbi-Chadli [et al.] // Eur. J. Nutr. – 2016 Mar. – Vol. 55, N 2. – P. 589–599.
34. n-3 polyunsaturated fatty acids reduce neonatal hypoxic/ischemic brain injury by promoting phosphatidylserine formation and Akt signaling / W. Zhang [et al.] // Stroke. – 2015 Oct. – Vol. 46, N 10. – P. 2943–2950.
35. Docosahexaenoic acid regulates the formation of lipid rafts: A unified view from experiment and simulation / S. R. Wassall [et al.] // Biochim. Biophys. Acta Biomembr. – 2018 Oct. – Vol. 1860, N 10. – P. 1985–1993.
36. Perturbations in endothelial dysfunction-associated pathways in the nitrofen-induced congenital diaphragmatic hernia model / S. Zhaorigetu [et al.] // J. Vasc. Res. – 2018. – Vol. 55, N 1. – P. 26–34.
37. The early nutritional environment of mice determines the capacity for adipose tissue expansion by modulating genes of caveolae structure / L. P. Kozak [et al.] // PLoS ONE. – 2010 Jun. – Vol. 5, N 6. – P. e11015.
38. Tyrosine phosphorylation of caveolin 1 by oxidative stress is reversible and dependent on the c-src tyrosine kinase but not mitogen-activated protein kinase pathways in placental artery endothelial cells / D. B. Chen [et al.] // Biol. Reprod. – 2005 Oct. – Vol. 73, N 4. – P. 761–772.
39. Docosahexaenoic acid affects endothelial nitric oxide synthase in caveolae / Q. Li [et al.] // Arch. Biochem. Biophys. – 2007 Oct. – Vol. 466, N 2. – P. 250–259.
40. Extracellular vesicles in the intrauterine environment: challenges and potential functions / H. P. Nguen [et al.] // Biol. Reprod. – 2016 Nov. – Vol. 95, N 5. – P. 109.
41. Microparticles hyperactivity in a case of intrauterine growth restriction / V. Makris [et al.] // Clin. Exp. Obstet. Gynecol. – 2015. – Vol. 42, N 2. – P. 231–233.
42. Increased circulating microparticles in women with preeclampsia / Y. Zhang [et al.] // Int. J. Lab. Hematol. – 2018 Jun. – Vol. 40, N 3. – P. 352–358.
43. Adipose tissue exosomal proteomic profile reveals a role on placenta glucose metabolism in gestational diabetes mellitus / N. Jayabalan [et al.] // Clin. Endocrinol. Metab. – 2019 May. – Vol. 104, N 5. – P. 1735–1752.
44. Fish-oil supplementation alters numbers of circulating endothelial progenitor cells and microparticles independently of eNOS genotype / S. Y. Wu [et al.] // Am. J. Clin. Nutr. – 2014 Nov. – Vol. 100, N 5. – P. 1232–1243.
45. Acute supplementation with eicosapentaenoic acid reduces platelet microparticle activity in healthy subjects / M. Phang [et al.] // J. Nutr. Biochem. – 2012 Sep. – Vol. 23, N 9. – P. 1128–1133.
46. Low neonatal plasma n-6/n-3 PUFA ratios regulate offspring adipogenic potential and condition adult obesity resistance / M. C. Rudolph [et al.] // Diabetes. – 2018 Apr. – Vol. 67, N 4. – P. 651–661.
47. Maternal n-3 polyunsaturated fatty acid deprivation during pregnancy and lactation affects neurogenesis and apoptosis

- in adult offspring: associated with DNA methylation of brain-derived neurotrophic factor transcripts / C. Fan [et al.] // *Nutr. Res.* – 2016 Sep. – Vol. 36, N 9. – P. 1013–1021.
48. Genome-wide methylation profile following prenatal and postnatal dietary omega-3 fatty acid supplementation in pigs / R. L. Boddicker [et al.] // *Anim. Genet.* – 2016 Dec. – Vol. 47, N 6. – P. 658–671.
 49. Dietary supplementation with polyunsaturated fatty acid during pregnancy modulates DNA methylation at IGF2/H19 imprinted genes and growth of infants / H.-S. Lee [et al.] // *Physiol. Genomics.* – 2014 Dec. – Vol. 46, N 23. – P. 851–857.
 50. Effect of prenatal DHA supplementation on the infant epigenome: results from a randomized controlled trial / S. J. van Dijk [et al.] // *Clin. Epigenetics.* – 2016 Nov. – Vol. 8. – P. 114.
 51. The role of PKC ζ in cord blood T-cell maturation towards Th1 cytokine profile and its epigenetic regulation by fish oil / H. Harb [et al.] // *Biosci. Rep.* – 2017 Mar. – Vol. 37, N 2. – pii: BSR20160485.
 52. Consumption of distinct dietary lipids during early pregnancy differentially modulates the expression of microRNAs in mothers and offspring / P. Casas-Agustench [et al.] // *PLOS One.* – 2015 Feb. – Vol. 10, N 2. – P. e0117858.
 53. Omega-3 fatty acid addition during pregnancy / P. Middleton [et al.] // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2018 Nov. – Vol. 11. – CD003402.
 54. Serum omega-3 fatty acids and treatment outcomes among women undergoing assisted reproduction / Y. H. Chiu [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2018 Jan. – Vol. 33, N 1. – P. 156–165.
 55. Rioux, F. M. Does inadequate maternal iron or DHA status have a negative impact on an infant's functional outcomes? / F. M. Rioux, G. Lindmark, O. Hernell // *Acta Paediatrica.* – 2006. – Vol. 95, N 2. – P. 137–144.
 56. Fernstrom, J. D. Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on neuronal function / J. D. Fernstrom // *Lipids.* – 1999 Feb. – Vol. 34, N 2. – P. 161–169.
 57. Transgenic overproduction of omega-3 polyunsaturated fatty acids provides neuroprotection and enhances endogenous neurogenesis after stroke / X. Hu [et al.] // *Curr. Mol. Med.* – 2013 Nov. – Vol. 13, N 9. – P. 1465–1473.
 58. Long-term effects of perinatal essential fatty acid deficiency on anxiety-related behavior in mice / V. Palsdottir [et al.] // *Behav. Neurosci.* – 2012 Apr. – Vol. 126, N 2. – P. 361–369.
 59. Effect of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids intake during pregnancy on maternal, infant, and child health outcomes: a systematic review / B. Imhoff-Kunsch [et al.] // *Paediatr. Perinat. Epidemiol.* – 2012 Jul. – Vol. 26, suppl. 1. – P. 91–107.
 60. Dietary intake of DHA during pregnancy: a significant gap between the actual intake and current nutritional recommendations / R. Wierzejska [et al.] // *Rocz. Panstw. Zakl. Hig.* – 2018. – Vol. 69, N 4. – P. 381–386.
 61. Very low inadequate dietary intakes of essential n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) in pregnant and lactating French women: The INCA2 survey / J. Tressou [et al.] // *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* – 2019 Jan. – Vol. 140. – P. 3–10.
 62. Kominiarek, M. A. Nutrition recommendations in pregnancy and lactation / M. A. Kominiarek, P. Rajan // *Med. Clin. North Am.* – 2016 Nov. – Vol. 100, N 6. – P. 1199–1215.
 63. DHA mitigates autistic behaviors accompanied by dopaminergic change in a gene / prenatal stress mouse model / F. Matsui [et al.] // *Neuroscience.* – 2018 Feb. – Vol. 371. – P. 407–419.
 64. Maternal DHA supplementation protects rat offspring against impairment of learning and memory following prenatal exposure to valproic acid / J. Gao [et al.] // *J. Nutr. Biochem.* – 2016 Sep. – Vol. 35. – P. 87–95.
 65. Maternal supplementation with very-long chain n-3 fatty acids during pregnancy and lactation augments children's IQ at 4 years of age / I. B. Helland [et al.] // *Pediatrics.* – 2003 Jan. – Vol. 111, N 1. – P. e39–e44.
 66. The effect of prenatal docosahexaenoic acid supplementation on infant outcomes in African American women living in low-income environments: A randomized, controlled trial / K. Keenan [et al.] // *Psychoneuroendocrinology.* – 2016 Sep. – Vol. 71. – P. 170–175.
 67. N-3 long chain polyunsaturated fatty acids increase the expression of PPAR γ -target genes and resistance of isolated heart and cultured cardiomyocytes to ischemic injury / A. M. Shysh [et al.] // *Pharmacol. Rep.* – 2016 Dec. – Vol. 68, N 6. – P. 1133–1139.
 68. Higher oily fish consumption in late pregnancy is associated with reduced aortic stiffness in the child at age 9 years / J. Bryant [et al.] // *Circ. Res.* – 2015 Mar. – Vol. 116, N 7. – P. 1202–1205.
 69. The effect of maternal fish oil supplementation during the last trimester of pregnancy on blood pressure, heart rate and heart rate variability in the 19-year-old offspring / D. Rytter [et al.] // *Br. J. Nutr.* – 2012 Oct. – Vol. 108, N 8. – P. 1475–1483.
 70. Bioavailability of n-3 fatty acids from n-3-enriched foods and fish oil with different oxidative quality in healthy human subjects: a randomised single-meal cross-over study / I. Ottestad [et al.] // *J. Nutr. Sci.* – 2016 Oct. – Vol. 5. – P. e43.

Поступила 27.02.2019 г.

Принята в печать 27.09.2019 г.

References

1. Pirkola J, Väärasmäki M, Ala-Korpela M, Bloigu A, Canoy D, Hartikainen AL, et al. Low-grade, systemic inflammation in adolescents: association with early-life factors, gender, and lifestyle. *Am J Epidemiol.* 2010 Jan;171(1):72–82. doi: 10.1093/aje/kwp320.
2. Pedersen JM, Mortensen EL, Christensen DS, Roizing M, Brunsgaard H, Meincke RH, et al. Prenatal and early postnatal stress and later life inflammation. *Psychoneuroendocrinology.* 2018 Feb;88:158–166. doi: 10.1016/j.psyneuen.2017.12.014.
3. Staud F, Karahoda R. Trophoblast: The central unit of fetal growth, protection and programming. *Int J Biochem Cell Biol.* 2018 Dec;105:35–40. doi: 10.1016/j.biocel.2018.09.016.
4. Kuzawa CW, Fried RL, Borja JB, McDade TW. Maternal pregnancy C-reactive protein predicts offspring birth size and body composition in metropolitan Cebu, Philippines. *J Dev Orig Health Dis.* 2017 Dec;8(6):674–681. doi: 10.1017/S2040174417000502.
5. Watanabe IKM, Jara ZP, Volpini RA, Franco MDC, Jung

- FF, Casarini DE. Up-regulation of renal renin-angiotensin system and inflammatory mechanisms in the prenatal programming by low-protein diet: beneficial effect of the post-weaning losartan treatment. *J Dev Orig Health Dis*. 2018 Oct;9(5):530-535. doi: 10.1017/S2040174418000296
6. Peixoto AB, Rolo LC, Nardoza LMM, Araujo Júnior E. Epigenetics and preeclampsia: programming of future outcomes. *Methods Mol Biol*. 2018;1710:73-83. doi: 10.1007/978-1-4939-7498-6_6
7. Tarry-Adkins JL, Fernandez-Twinn DS, Chen JH, Hargreaves IP, Neergheen V, Aiken CE, et al. Poor maternal nutrition and accelerated postnatal growth induces an accelerated aging phenotype and oxidative stress in skeletal muscle of male rats. *Dis Model Mech*. 2016 Oct;9(10):1221-1229.
8. McDade TW, Ryan C, Jones MJ, MacIsaac JL, Morin AM, Meyer JM, et al. Social and physical environments early in development predict DNA methylation of inflammatory genes in young adulthood. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017 Jul;114(29):7611-7616. doi: 10.1073/pnas.1620661114
9. Bouwens M, van de Rest O, Dellschaft N, Bromhaar MG, de Groot LC, Geleijnse JM, et al. Fish-oil supplementation induces antiinflammatory gene expression profiles in human blood mononuclear cells. *Am J Clin Nutr*. 2009 Aug;90(2):415-24. doi: 10.3945/ajcn.2009.27680
10. Sigal LH. Basic science for the clinician 39: NF-kappa B-function, activation, control, and consequences. *J Clin Rheumatol*. 2006 Aug;12(4):207-11. doi: 10.1097/01.rhu.0000231385.94784.e4
11. Serhan CN. Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology. *Nature*. 2014 Jun;510(7503):92-101. doi: 10.1038/nature13479
12. Grygiel-Gyrniak B. Peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands: nutritional and clinical implications – a review. *Nutr J*. 2014 Feb;13:17. doi: 10.1186/1475-2891-13-17
13. Abedi E, Sahari MA. Long-chain polyunsaturated fatty acid sources and evaluation of their nutritional and functional properties. *Food Sci Nutr*. 2014 Sep;2(5):443-63. doi: 10.1002/fsn3.121
14. Haast RA, Kiliaan AJ. Impact of fatty acids on brain circulation, structure and function. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2015 Jan;92:3-14. doi: 10.1016/j.plefa.2014.01.002
15. Garcia-So J, Zhang X, Yang X, Rubinstein MR, Mao Y, Kitajewski J, et al. Omega-3 fatty acids suppress *Fusobacterium nucleatum*-induced placental inflammation originating from maternal endothelial cells. *JCI Insight*. 2019 Feb;4(3). pii: 125436. doi: 10.1172/jci.insight.125436
16. Ramalingam L, Menikdiwela KR, Clevenger S, Eboh T, Allen L, Koboziev I, et al. Maternal and postnatal supplementation of fish oil improves metabolic health of mouse male offspring. *Obesity (Silver Spring)*. 2018 Nov;26(11):1740-1748. doi: 10.1002/oby.22319
17. See VHL, Mas E, Prescott SL, Beilin LJ, Burrows S, Barden AE, Huang RC, et al. Effects of prenatal n-3 fatty acid supplementation on offspring resolvins at birth and 12 years of age: a double-blind, randomised controlled clinical trial. *Br J Nutr*. 2017 Dec;118(11):971-980. doi: 10.1017/S0007114517002914
18. Krauss-Etschmann S, Hartl D, Rzehak P, Heinrich J, Shadid R, Del Carmen Ramirez-Tortosa M, et al. Decreased cord blood IL-4, IL-13, and CCR4 and increased TGF-beta levels after fish oil supplementation of pregnant women. *J Allergy Clin Immunol*. 2008 Feb;121(2):464-470.e6. doi: 10.1016/j.jaci.2007.09.018
19. Thompson LP, Al-Hazan Y. Impact of oxidative stress in fetal programming. *J Pregnancy*. 2012;2012:582748. doi: 10.1155/2012/582748
20. Schafer FQ, Buettner GR. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Radic Biol Med*. 2001 Jun;30(11):1191-212. doi: 10.1016/s0891-5849(01)00480-4
21. Eick SM, Barrett ES, van't Erve TJ, Nguyen RHN, Bush NR, Milne G, et al. Association between prenatal psychological stress and oxidative stress during pregnancy. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2018 Jul;32(4):318-326. doi: 10.1111/ppe.12465
22. Ferreira DJS, Pedroza AA, Braz GRF, Fernandes MP, Lagranha CJ. Mitochondrial dysfunction: maternal protein restriction as a trigger of reactive species overproduction and brainstem energy failure in male offspring brainstem. *Nutr Neurosci*. 2018 Mar;1-11. doi: 10.1080/1028415X.2018.1444543
23. Ramaian B, Bettadahalli S, Talahalli RR. Dietary omega-3 but not omega-6 fatty acids down-regulate maternal dyslipidemia induced oxidative stress: a three generation study in rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 2016 Sep;477(4):887-894. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.06.153
24. Kajarabille N, Hurtado JA, Peña-Quintana L, Peña M, Ruiz J, Diaz-Castro J, et al. Omega-3 LCPUFA supplement: a nutritional strategy to prevent maternal and neonatal oxidative stress. *Matern Child Nutr*. 2017 Apr;13(2). doi: 10.1111/mcn.12300
25. Barden AE, Mori TA, Dunstan JA, Taylor AL, Thornton CA, Croft KD, et al. Fish oil supplementation in pregnancy lowers F2-isoprostanes in neonates at high risk of atopy. *Free Radic Res*. 2004 Mar;38(3):233-9.
26. Singer SJ, Nicolson GL. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science*. 1972 Feb;175(4023):720-31.
27. Karnovsky MJ, Kleinfeld AM, Hoover RL, Klausner RD. The concept of lipid domains in membranes. *J Cell Biol*. 1982 Jul;94(1):1-6. doi: 10.1083/jcb.94.1.1
28. Sonnino S, Prinetti A. Membrane domains and the «lipid raft» concept. *Curr Med Chem*. 2013;20(1):4-21.
29. Sohn J, Brick RM, Tuan RS. From embryonic development to human diseases: the functional role of caveolae/caveolin. *Birth Defects Res C Embryo Today*. 2016 Mar;108(1):45-64. doi: 10.1002/bdrc.21121
30. Itokazu Y, Tsai YT, Yu RK. Epigenetic regulation of ganglioside expression in neural stem cells and neuronal cells. *Glycoconj J*. 2017 Dec;34(6):749-756. doi: 10.1007/s10719-016-9719-6
31. Bowen RA, Clandinin MT. Dietary low linolenic acid compared with docosahexaenoic acid alter synaptic plasma membrane phospholipid fatty acid composition and sodium-potassium ATPase kinetics in developing rats. *J Neurochem*. 2002 Nov;83(4):764-74.
32. Jonscher KR, Stewart MS, Alfonso-Garcia A, DeFelice BC, Wang XX, Luo Y, et al. Early PQQ supplementation has persistent long-term protective effects on developmental programming of hepatic lipotoxicity and inflammation in obese mice. *FASEB J*. 2017 Apr;31(4):1434-1448. doi: 10.1096/fj.201600906R
33. Kasbi-Chadli F, Ferchaud-Roucher V, Krempf M, Ouguerram K. Direct and maternal n-3 long-chain polyunsaturated fatty

- acid supplementation improved triglyceridemia and glycemia through the regulation of hepatic and muscle sphingolipid synthesis in offspring hamsters fed a high-fat diet. *Eur J Nutr*. 2016 Mar;55(2):589-599. doi: 10.1007/s00394-015-0879-0
34. Zhang W, Liu J, Hu X, Li P, Leak RK, Gao Y, et al. n-3 polyunsaturated fatty acids reduce neonatal hypoxic/ischemic brain injury by promoting phosphatidylserine formation and Akt signaling. *Stroke*. 2015 Oct;46(10):2943-50. doi: 10.1161/STROKEAHA.115.010815
35. Wassall SR, Leng X, Canner SW, Pennington ER, Kinnun JJ, Cavazos AT, et al. Docosahexaenoic acid regulates the formation of lipid rafts: A unified view from experiment and simulation. *Biochim Biophys Acta Biomembr*. 2018 Oct;1860(10):1985-1993. doi: 10.1016/j.bbmem.2018.04.016
36. Zhaorigetu S, Bair H, Lu J, Jin D, Olson SD, Harting MT. Perturbations in endothelial dysfunction-associated pathways in the nitrofen-induced congenital diaphragmatic hernia model. *J Vasc Res*. 2018;55(1):26-34. doi: 10.1159/000484087
37. Kozak LP, Newman S, Chao PM, Mendoza T, Koza RA. The early nutritional environment of mice determines the capacity for adipose tissue expansion by modulating genes of caveolae structure. *PLoS One*. 2010 Jun;5(6):e11015. doi: 10.1371/journal.pone.0011015
38. Chen DB, Li SM, Qian XX, Moon C, Zheng J. Tyrosine phosphorylation of caveolin 1 by oxidative stress is reversible and dependent on the c-src tyrosine kinase but not mitogen-activated protein kinase pathways in placental artery endothelial cells. *Biol Reprod*. 2005 Oct;73(4):761-72.
39. Li Q, Zhang Q, Wang M, Liu F, Zhao S, Ma J, et al. Docosahexaenoic acid affects endothelial nitric oxide synthase in caveolae. *Arch Biochem Biophys*. 2007 Oct;466(2):250-9. doi: 10.1016/j.abb.2007.06.023
40. Nguyen HP, Simpson RJ, Salamonsen LA, Greening DW. Extracellular vesicles in the intrauterine environment: challenges and potential functions. *Biol Reprod*. 2016 Nov;95(5):109. doi: 10.1095/biolreprod.116.143503
41. Makris V, Daniilidis A, Koiou A, Balaouras D, Fotinakis I, Spathopoulou S, et al. Microparticles hyperactivity in a case of intrauterine growth restriction. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 2015;42(2):231-3.
42. Zhang Y, Zhao C, Wei Y, Yang S, Cui C, Yang J, et al. Increased circulating microparticles in women with preeclampsia. *Int J Lab Hematol*. 2018 Jun;40(3):352-358. doi: 10.1111/ijlh.12796
43. Jayabalan N, Lai A, Ormazabal V, Adam S, Guanzone D, Palma C, et al. Adipose tissue exosomal proteomic profile reveals a role on placenta glucose metabolism in gestational diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2019 May;104(5):1735-1752. doi: 10.1210/je.2018-01599
44. Wu SY, Mayneris-Perxachs J, Lovegrove JA, Todd S, Yaqoob P. Fish-oil supplementation alters numbers of circulating endothelial progenitor cells and microparticles independently of eNOS genotype. *Am J Clin Nutr*. 2014 Nov;100(5):1232-43. doi: 10.3945/ajcn.114.088880
45. Phang M, Lincz L, Seldon M, Garg ML. Acute supplementation with eicosapentaenoic acid reduces platelet microparticle activity in healthy subjects. *J Nutr Biochem*. 2012 Sep;23(9):1128-33. doi: 10.1016/j.jnutbio.2011.06.006
46. Rudolph MC, Jackman MR, Presby DM, Houck JA, Webb PG, Johnson GC, et al. Low neonatal plasma n-6/n-3 PUFA ratios regulate offspring adipogenic potential and condition adult obesity resistance. *Diabetes*. 2018 Apr;67(4):651-61. doi: 10.2337/db17-0890
47. Fan C, Fu H, Dong H, Lu Y, Lu Y, Qi K. Maternal n-3 polyunsaturated fatty acid deprivation during pregnancy and lactation affects neurogenesis and apoptosis in adult offspring: associated with DNA methylation of brain-derived neurotrophic factor transcripts. *Nutr Res*. 2016 Sep;36(9):1013-1021. doi: 10.1016/j.nutres.2016.06.005
48. Boddicker RL, Koltes JE, Fritz-Waters ER, Koesterke L, Weeks N, Yin T, et al. Genome-wide methylation profile following prenatal and postnatal dietary omega-3 fatty acid supplementation in pigs. *Anim Genet*. 2016 Dec;47(6):658-671. doi: 10.1111/age.12468
49. Lee H-S, Barraza-Villarreal A, Biessy C, Duarte-Salles T, Sly PD, Ramakrishnan U, et al. Dietary supplementation with polyunsaturated fatty acid during pregnancy modulates DNA methylation at IGF2/H19 imprinted genes and growth of infants. *Physiol Genomics*. 2014 Dec;46(23):851-7. doi: 10.1152/physiolgenomics.00061.2014
50. van Dijk SJ, Zhou J, Peters TJ, Buckley M, Sutcliffe B, Oytam Y, et al. Effect of prenatal DHA supplementation on the infant epigenome: results from a randomized controlled trial. *Clin Epigenetics*. 2016 Nov;8:114.
51. Harb H, Irvine J, Amarasekera M, Hii CS, Kesper DA, Ma Y, et al. The role of PKC ζ in cord blood T-cell maturation towards Th1 cytokine profile and its epigenetic regulation by fish oil. *Biosci Rep*. 2017 Mar;37(2). pii: BSR20160485. doi: 10.1042/BSR20160485
52. Casas-Agustench P, Fernandes FS, Tavares do Carmo MG, Visioli F, Herrera E, Dávalos A. Consumption of distinct dietary lipids during early pregnancy differentially modulates the expression of microRNAs in mothers and offspring. *PLoS One*. 2015 Feb;10(2):e0117858. doi: 10.1371/journal.pone.0117858
53. Middleton P, Gomersall JC, Gould JF, Shepherd E, Olsen SF. Omega-3 fatty acid addition during pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018 Nov;11:CD003402. doi: 10.1002/14651858.CD003402.pub3
54. Chiu YH, Karmon AE, Gaskins AJ, Arvizu M, Williams PL, Souter I, et al. Serum omega-3 fatty acids and treatment outcomes among women undergoing assisted reproduction. *Hum Reprod*. 2018 Jan;33(1):156-165. doi: 10.1093/humrep/dex335
55. Rioux FM, Lindmark G, Hernell O. Does inadequate maternal iron or DHA status have a negative impact on an infant's functional outcomes? *Acta Paediatrica*. 2006;95(2):137-44.
56. Fernstrom JD. Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on neuronal function. *Lipids*. 1999 Feb;34(2):161-9.
57. Hu X, Zhang F, Leak RK, Zhang W, Iwai M, Stetler RA, et al. Transgenic overproduction of omega-3 polyunsaturated fatty acids provides neuroprotection and enhances endogenous neurogenesis after stroke. *Curr Mol Med*. 2013 Nov;13(9):1465-73.
58. Palsdottir V, Månsson JE, Blomqvist M, Egencioglu E, Olsson B. Long-term effects of perinatal essential fatty acid deficiency on anxiety-related behavior in mice. *Behav Neurosci*. 2012 Apr;126(2):361-9. doi: 10.1037/a0027161
59. Imhoff-Kunsch B, Briggs V, Goldenberg T, Ramakrishnan U. Effect of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids intake during pregnancy on maternal, infant, and child health outcomes: a systematic review. *Paediatr Perinat*

- Epidemiol. 2012 Jul;26 Suppl 1:91-107. doi: 10.1111/j.1365-3016.2012.01292.x
60. Wierzejska R, Jarosz M, Wojda B, Siuba-Strzelińska M. Dietary intake of DHA during pregnancy: a significant gap between the actual intake and current nutritional recommendations. *Rocz Panstw Zakl Hig.* 2018;69(4):381-386.
61. Tressou J, Buaud B, Simon N, Pasteau S, Guesnet P. Very low inadequate dietary intakes of essential n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) in pregnant and lactating French women: The INCA2 survey. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2019 Jan;140:3-10. doi: 10.1016/j.plefa.2018.11.007
62. Kominiaek MA, Rajan P. Nutrition recommendations in pregnancy and lactation. *Med Clin North Am.* 2016 Nov;100(6):1199-1215. doi: 10.1016/j.mcna.2016.06.004
63. Matsui F, Hecht P, Yoshimoto K, Watanabe Y, Morimoto M, Fritsche K, et al. DHA mitigates autistic behaviors accompanied by dopaminergic change in a gene / prenatal stress mouse model. *Neuroscience.* 2018 Feb;371:407-419. doi: 10.1016/j.neuroscience.2017.12.029
64. Gao J, Wu H, Cao Y, Liang S, Sun C, Wang P, et al. Maternal DHA supplementation protects rat offspring against impairment of learning and memory following prenatal exposure to valproic acid. *J Nutr Biochem.* 2016 Sep;35:87-95. doi: 10.1016/j.jnutbio.2016.07.003
65. Helland IB, Smith L, Saarem K, Saugstad OD, Drevon CA. Maternal supplementation with very-long chain n-3 fatty acids during pregnancy and lactation augments children's IQ at 4 years of age. *Pediatrics.* 2003 Jan;111(1):e39-44.
66. Keenan K, Hipwell A, McAloon R, Hoffmann A, Mohanty A, Magee K. The effect of prenatal docosahexaenoic acid supplementation on infant outcomes in African American women living in low-income environments: A randomized, controlled trial. *Psychoneuroendocrinology.* 2016 Sep;71:170-5. doi: 10.1016/j.psyneuen.2016.05.023
67. Shysh AM, Nagibin VS, Kaplinskii SP, Dosenko VE. N-3 long chain polyunsaturated fatty acids increase the expression of PPAR γ -target genes and resistance of isolated heart and cultured cardiomyocytes to ischemic injury. *Pharmacol Rep.* 2016 Dec;68(6):1133-1139. doi: 10.1016/j.pharep.2016.06.013
68. Bryant J, Hanson M, Peebles C, Davies L, Inskip H, Robinson S, et al. Higher oily fish consumption in late pregnancy is associated with reduced aortic stiffness in the child at age 9 years. *Circ Res.* 2015 Mar;116(7):1202-5. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.305158
69. Rytter D, Christensen JH, Bech BH, Schmidt EB, Henriksen TB, Olsen SF. The effect of maternal fish oil supplementation during the last trimester of pregnancy on blood pressure, heart rate and heart rate variability in the 19-year-old offspring. *Br J Nutr.* 2012 Oct;108(8):1475-83. doi: 10.1017/S0007114511006799
70. Ottestad I, Nordvi B, Vogt G, Holck M, Halvorsen B, Brønner KW, et al. Bioavailability of n-3 fatty acids from n-3-enriched foods and fish oil with different oxidative quality in healthy human subjects: a randomised single-meal cross-over study. *J Nutr Sci.* 2016 Oct;5:e43. doi: 10.1017/jns.2016.34

Submitted 27.02.2019

Accepted 27.09.2019

Сведения об авторах:

Беляева Л.Е. – к.м.н., доцент, заведующая кафедрой патологической физиологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;
Павлюкевич А.Н. – м.м.н., ассистент кафедры патологической физиологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

Information about authors:

Belyaeva L.E. – Candidate of Medical Sciences, associate professor, head of the Chair of Pathologic Physiology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;
Pauliukevich A.N. – Master of Medical Sciences, lecturer of the Chair of Pathologic Physiology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра патологической физиологии. E-mail: lyudm.belyaeva2013@yandex.by – Беляева Людмила Евгеньевна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Pathologic Physiology. E-mail: lyudm.belyaeva2013@yandex.by – Lyudmila E. Belyaeva.

ЭОЗИНОФИЛЬНЫЕ ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ЛОВУШКИ: РОЛЬ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ

МИНИНА Е.С., НОВИКОВ П.Д., СЕНЬКОВИЧ С.А.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск,
Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2019. – Том 18, №5. – С. 26-34.

EOSINOPHIL EXTRACELLULAR TRAPS: THEIR ROLE IN HEALTH AND DISEASE

MININA E.S., NOVIKOV P.D., SENKOVICH S.A.

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2019;18(5):26-34.

Резюме.

В обзоре представлены данные о новом механизме антимикробного действия эозинофильных гранулоцитов – образовании эозинофильных внеклеточных ловушек (ЭВЛ). Выделение внеклеточных ДНК-ловушек было выявлено также у нейтрофилов, тучных клеток, моноцитов, тканевых макрофагов и лимфоцитов. Образование внеклеточных ловушек, помимо человека, наблюдали у рыбы, быка, лошади, кошки, мыши и курицы. Гибель эозинофилов с выбросом внеклеточных ДНК-ловушек называется «ЭЭТоз». В статье описаны структурные компоненты эозинофильных внеклеточных ловушек, факторы, стимулирующие их появление, и механизмы антимикробного действия внеклеточных ДНК-ловушек. Приводятся основные инфекционные, иммуновоспалительные и аллергические заболевания, при которых наблюдали образование ЭВЛ. Изучение новых иммунологических механизмов защиты организма, таких как образование внеклеточных ловушек различными клетками системы иммунитета, представляет большой интерес не только для ученых, но и для практикующих врачей.

Ключевые слова: эозинофильные гранулоциты, эозинофильные внеклеточные ловушки, ЭЭТоз, ДНК.

Abstract.

The review presents the current data about a new mechanism of antimicrobial action of eosinophilic granulocytes – the formation of eosinophil extracellular traps (EETs). The extraction of extracellular DNA traps was also detected in neutrophils, mast cells, monocytes, tissue macrophages and lymphocytes. The formation of extracellular traps, apart from humans, was observed in fish, bull, horse, cat, mouse and hen. The death of eosinophils with the release of extracellular DNA traps is called «EETosis». The main structural components of eosinophil extracellular traps, factors stimulating their appearance and mechanisms of the antimicrobial action of eosinophil extracellular DNA traps are described in the article. The main infectious, inflammatory and allergic diseases, in which EETs formation was observed, are presented in this review. The study of new immunological mechanisms of the human body defense, such as the formation of extracellular traps by various immune system cells, appears to be of great interest not only for scientists, but also for practicing physicians.

Key words: eosinophils, eosinophil extracellular traps, EETosis, DNA.

В последнее десятилетие ученые заинтересовались исследованием внеклеточных ДНК-ловушек. Выделение сетей ДНК клетками системы иммунитета является частью врожденного иммунного ответа. Гибель клеток с выбросом

внеклеточных ДНК-ловушек (extracellular DNA trap cell death, EETosis, или ЭЭТоз) была выявлена у нейтрофилов, тучных клеток, моноцитов, тканевых макрофагов, эозинофилов и лимфоцитов [1].

Впервые сетчатые ДНК-структуры, выде-

ляемые эозинофилами, обнаружили S. Yousefi с соавт. в 2008 г. [2]. Эти ДНК-сети имели митохондриальное происхождение. Позднее в 2013 г. S. Ueki с соавт. [3] установили, что ДНК, входящая в состав сетей, была ядерного происхождения. Эти структуры, состоящие из ДНК-сетей и гранулярных белков, были названы эозинофильными внеклеточными ловушками (eosinophil extracellular traps, EETs или ЭВЛ), а гибель эозинофилов с выбросом ЭВЛ – ЭЭТозом (eosinophil extracellular DNA trap cell death, EETosis). Увеличение NADPH (никотинамид-аденин-динуклеотид-фосфат)-оксидаза-опосредованной продукции активных форм кислорода (АФК) играет важную роль в активации эозинофильного ЭТоза [1]. Согласно S. Ueki с соавт. 2016 г. [4] и А. Omokawa с соавт. 2018 г. [5] в состав ЭВЛ входят гистоны H1. Однако в исследовании V. Muniz с соавт. 2018 г. [6] было установлено, что ЭВЛ происходят из гистонов H3. Считается, что ЭВЛ, подобно нейтрофильным внеклеточным ловушкам, участвуют в захвате и уничтожении бактерий [1]. В исследовании S. Ueki с соавт. 2013 г. [3] было показано, что ЭЭТоз отличается от некроза и апоптоза.

Процесс ЭЭТоза происходит следующим образом: первоначально билобулярная форма ядра эозинофилов начинает терять свою форму, затем нуклеолема распадается и ДНК заполняет цитоплазму. Плазматическая мембрана разрывается, и происходит выброс сетей ДНК. Эти этапы ЭЭТоза схожи с таковым при НЕТозе (neutrophil extracellular DNA trap cell death, NETosis), однако точный механизм деконденсации ядерного содержимого эозинофилов требует дальнейшего изучения. При разрыве плазматической мембраны выделяются как производные от ядерной ДНК (гистон-положительные) сети, так и свободные гранулы эозинофилов. Внеклеточные интактные эозинофильные гранулы связываются с сетями ДНК. Часть внеклеточных гранул, выделенных во время ЭЭТоза, проявляла способность к секреции в ответ на эотаксин-1, подтверждая тем самым, что внеклеточные гранулы эозинофилов могут оставаться функциональными и способны секретировать свое содержимое [1].

Среди факторов стимуляции выброса ЭВЛ были выявлены липополисахарид (ЛПС) грамотрицательных бактерий, фактор комплемента C5a и эотаксин, IgG и IgA, иммобилизованные в среде с SYTOX Green, ионофор кальция A23187, фактор активации тромбоцитов (ФАТ), форбол-1,2-миристан-1,3-ацетат (ФМА), ти-

мический стромальный лимфопоэтин (thymic stromal lymphopoietin, TSLP или ТСЛП). ФАТ в сочетании с ИЛ-5 или гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF или ГМ-КСФ) индуцировал ЭЭТоз. ФАТ сам по себе был менее мощным индуктором ЭЭТоза и в отдельности ни ИЛ-5, ни ГМ-КСФ не вызывали ЭЭТоз. ФМА и ионофор кальция также индуцировали ЭЭТоз. ЭЭТоз, индуцированный ионофором кальция, развивался быстрее по сравнению со стимуляцией иммобилизованными IgG и ФМА [1].

Целью данной работы был обзор литературы, посвященный изучению роли внеклеточных ловушек эозинофилов при заболеваниях разной этиологии.

ЭВЛ при различных заболеваниях

В последние годы ЭВЛ были выявлены при различных инфекционных и неинфекционных заболеваниях, в частности при воспалительных заболеваниях кожи и кишечника. Также формирование ЭВЛ часто наблюдается у пациентов с аллергическими заболеваниями, такими как бронхиальная астма, контактный дерматит, атопический дерматит, крапивница и аллергические реакции на лекарства [2, 7, 8, 9, 10, 11].

В данном обзоре приводятся исследования роли ЭВЛ при различных патологиях в хронологическом порядке.

ЭВЛ при кожных заболеваниях

В исследовании D. Simon с соавт. 2011 г. [8] внеклеточная ДНК в сочетании с эозинофильным катионным белком (eosinophil cationic protein, ЕСР) была обнаружена в биоптатах при инфекционных заболеваниях кожи, таких как эктопаразитозы и мигрирующая кожная личинка (larva migrans). Также обнаружили ЭВЛ в биоптатах кожи при эозинофильном целлюлите Уэллса, гиперэозинофильном синдроме, буллезном пемфигоиде, листовидной пузырчатке и герпетическом дерматите. Кроме этого, ЭВЛ были выявлены при положительной накожной пробе (atopy patch test), аллергическом контактном дерматите и лекарственной гиперчувствительности.

При всех приведенных выше заболеваниях, кроме эозинофильного целлюлита Уэллса, количество эозинофилов, выделяющих ДНК и ЕСР, было ниже 10%. При эозинофильном целлюлите

Уэллса доля эозинофилов была 10-30%.

Эозинофилы, генерирующие ЭВЛ, являлись неапоптотическими, потому что они были отрицательны по каспазе-3 и имели нормальную морфологию ядра. Следует отметить, что внеклеточные отложения ЕСР также были обнаружены и при отсутствии внеклеточной ДНК. Например, были выявлены ЕСР-позитивные внеклеточные гранулы во всех эозинофильных биоптатах кожи. Это говорит о том, что выделение ЕСР может происходить независимо от выделения ДНК. Возможно, ЕСР менее подвержен деградации по сравнению с ДНК и, следовательно, может легче накапливаться.

Было предположено, что образование ЭВЛ обеспечивает эффективную доставку токсичных гранулярных белков к патогену/антигену, который может быть захвачен сетями ДНК. В ходе исследования авторы обнаружили большое количество эозинофилов и ЭВЛ в непосредственной близости от апоптотических кератиноцитов пациентов с буллезным пемфигоидом. Это может говорить о том, что эозинофилы, возможно, с помощью ЭВЛ или без таковой вовлечены в повреждение кератиноцитов и образование булл [8].

ЭВЛ при аллергическом синусите и гиперэозинофильном синдроме

В исследовании S. Ueki с соавт. 2013 г. у пациентов с аллергическим синуситом и гиперэозинофильным синдромом наблюдались нарушения ядерных и плазматических мембран в цитолитических эозинофилах. Чтобы выяснить ультраструктурные характеристики цитолиза эозинофилов *in vivo*, тканевые эозинофилы оценивались с помощью трансмиссионной электронной микроскопии. Эозинофилы в биоптатах из пазух носа и кожи (от пациентов с аллергическим синуситом и гиперэозинофильным синдромом соответственно) показали сходные характеристики цитолитической дегрануляции с нарушением структуры плазматических и ядерных мембран. В отличие от ядерной конденсации хроматина, наблюдаемой у апоптотических эозинофилов, в данном случае наблюдалась деконденсация ядерного гетерохроматина и выделение содержимого ядра во внеклеточное пространство. Гранулы эозинофилов, выделяемые *in vivo*, были интактными и сохраняли свое содержимое [3].

ЭВЛ при эозинофильном эзофагите

В исследовании D. Simon с соавт. 2015 г. у

пациентов с эозинофильным эзофагитом наблюдалось повышенное содержание ЭВЛ в местах дефектов эпителиального барьера. Таким образом, формирование ЭВЛ может быть как важным механизмом защиты от инфекций, так и одновременно вызывать повреждение окружающих тканей, что еще больше ухудшает эпителиальный барьер [11]. Поскольку дефекты эпителиального барьера являются ключевым фактором при развитии многих заболеваний, вероятно, ЭВЛ могут участвовать и в патогенезе хронических заболеваний дыхательных путей [11, 12, 13].

ЭВЛ при эозинофильном хроническом риносинусите и эозинофильном среднем отите

В исследовании S. Ueki с соавт. 2016 г. изучалось явление ЭЭТоза у пациентов с эозинофильным хроническим риносинуситом и эозинофильным средним отитом. У пациентов с эозинофильным хроническим риносинуситом, помимо интактных эозинофилов, было выявлено большое количество эозинофилов с изменениями, характерными для ЭЭТоза: деконденсированные ядра, потеря лобуляции и/или разрушенные ядра. Кластеры свободных интактных эозинофильных гранул были обнаружены вблизи клеток, подвергшихся ЭЭТозу. В ходе исследования было выявлено, что в состав ЭВЛ входила ДНК. Обработка секрета ДНКазой I значительно ингибировала способность к образованию ЭВЛ. Также в исследовании ЭВЛ были обнаружены в ушных выделениях у пациентов с эозинофильным средним отитом. Таким образом, ЭВЛ являются компонентом экссудативных секретов при аллергических заболеваниях человека и, как было установлено в исследовании, способствуют повышению их вязкости. Авторы предложили рассматривать ЭВЛ как возможную мишень терапии заболеваний [4].

ЭВЛ при хроническом полипозном риносинусите

В исследовании E. Gevaert с соавт. 2017 г. [14] было показано, что образование ЭВЛ связано с повышением уровня ИЛ-5, а также с колонизацией *S. aureus* в тканях пациента. Кроме того, авторы впервые наблюдали захват *S. aureus* с помощью ЭВЛ в тканях пациента. Эозинофилы мигрировали в направлении *S. aureus* и захватывали их.

Поскольку цитотоксичность гранулярных эозинофильных белков хорошо известна и в пре-

дыдущих исследованиях рассматривалась роль эозинофилов в повреждении и предотвращении восстановления эпителиального барьера, возможно, и у пациентов с хроническим полипозным риносинуситом происходят те же процессы [11, 15]. Являются ли выявленные ЭВЛ причинным фактором повреждения эпителиального барьера у пациентов с хроническим полипозным риносинуситом, необходимо дополнительно исследовать.

У пациентов с хроническим полипозным риносинуситом ЭВЛ образовывались в основном в субэпителиальных участках с дефектами эпителиального барьера. Также была показана связь между уровнями периостина и эозинофильным воспалением, в связи с чем вызывает интерес изучение роли периостина в функционировании ЭВЛ. Периостин, который способствует эозинофильной инфильтрации в легочной ткани пациентов при аллергическом процессе, в частности при эозинофильном эзофагите [16], был обнаружен на высоких уровнях в тканях пациентов с большим количеством ЭВЛ, но периостин не был обнаружен, когда эозинофилы культивировали совместно с *S. aureus* [17], что, вероятно, связано с отсутствием необходимости в периостине при культивировании *in vitro*, так как в этом случае нет инфильтрации тканей.

ИЛ-5 и ТСЛП являются хорошо известными факторами стимуляции формирования ЭВЛ *in vitro* [1]. Поэтому ИЛ-5 и ТСЛП были исследованы как потенциальные триггеры формирования ЭВЛ в тканях пациентов с хроническим полипозным риносинуситом. Ожидается повышенные уровни ИЛ-5 были связаны с большим количеством ЭВЛ. Однако уровни ТСЛП не были заметно повышены в ткани. Это противоречило предыдущим исследованиям, в ходе которых уровень ТСЛП повышался после повреждения эпителия и коррелировал с выделением ЭВЛ у пациентов с эозинофильным эзофагитом и непосредственно запускал формирование ЭВЛ [11, 18, 19]. Однако данные ПЦР показали увеличение продукции ТСЛП через 2 часа. Поэтому, возможно, ТСЛП стимулировал формирование ЭВЛ позднее.

В целом, эти данные показали, что состояние ткани, природа триггера и взаимодействие между этими двумя факторами играют важную роль в определении интенсивности формирования ЭВЛ. Вполне вероятно, что инициация формирования ЭВЛ происходила в ходе прямого контакта между *S. aureus* и эозинофилами, при этом

формирование ЭВЛ дополнительно поддерживалось повышенными уровнями ИЛ-5, ТСЛП.

ЭВЛ при хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ)

Еще в 1995 г. было установлено, что ХОБЛ в основном обусловлена наличием нейтрофилов, а нейтрофильная эластаза способствует легочным поражениям, наблюдаемым при данном заболевании [20]. Кроме того, сообщалось, что увеличение количества эозинофилов не имеет клинической значимости [21], но в настоящее время известно, что у пациентов среднего возраста эозинофилы являются одной из причин развития хронического кашля, связанного с перенной обструкцией и гиперреактивностью дыхательных путей, ускоренным снижением уровня ОФВ1 и развитием ХОБЛ. [22, 23].

В 2015 г. F. Grabcanovic-Musija с соавт. [24] пришли к выводу, что тяжесть легочных нарушений при ХОБЛ была связана с НЕТозом. Однако авторы этого исследования оценивали только роль нейтрофилов в патогенезе ХОБЛ, без учета возможной роли ЭЭТоза.

Исследование L. Uribe Echevarria с соавт. 2017 г. посвящено изучению воспалительного процесса при ХОБЛ с ранним развитием симптоматики и прогрессирующим течением [25]. Авторами было установлено, что формирование ЭВЛ и НВЛ происходило в мокроте здоровых пациентов, которые бросили курить в течение не менее 6 месяцев, и пациентов с ХОБЛ. Было отмечено, что даже у пациентов, которые не курят в течение ≥ 6 месяцев, есть ЭЭТоз, который вызывает НЕТоз. У пациентов с низким риском обострения заболевания вырабатывались ЭВЛ, а у пациентов с высоким риском обострения – ЭВЛ и НВЛ. Также отмечалось, что ЭЭТоз был связан с повреждением клеток, и было выявлено, что ЭВЛ остаются даже у пациентов, которые больше не курят. Клеточные остатки и хроматин эозинофилов, подвергшихся ЭЭТозу, накапливаются в дыхательных путях и вызывают стимулирование нейтрофилов, в результате чего могут образовываться НВЛ [25].

Хорошо известно, что сигаретный дым содержит более 4000 токсинов и приводит к индукции провоспалительных цитокинов. Кроме того, большое количество АФК вырабатываются в горящей сигарете, и они способны повредить эпителиальные клетки, выстилающие дыхательные пути. АФК также активируют внутриклеточные

сигнальные каскады, приводящие к активации воспалительных генов (IL-8 и TNF- α), которые способствуют развитию хронического воспаления. Следовательно, индукция ЭЭТоза у пациентов с ХОБЛ, как описано в данном исследовании, вероятно, являлась вторичной характеристикой у генетически предрасположенных пациентов, имеющих эозинофилы в дыхательных путях. Согласно наблюдениям, отмечалась высокая чувствительность эозинофилов к токсинам сигаретного дыма и они реагировали массивным ЭЭТозом.

Цитотоксическое действие эозинофилов может способствовать развитию более выраженной симптоматики при ХОБЛ, а также утяжелению обострений и, следовательно, более быстрому прогрессированию заболевания. Свободные разрушенные секреторные гранулы эозинофилов могут быть агрессивными в отношении эпителия и эндотелия, поскольку содержащиеся в них белки способствуют повреждению тканей и, как следствие, их дисфункции.

При этом у авторов возникли сомнения в эффективности кортикостероидов для индукции контроля эозинофилов при ЭЭТозе, что требует дальнейшего тщательного исследования.

Полученные результаты могут способствовать разработке профилактических мероприятий, направленных на предотвращение развития ХОБЛ у молодых курильщиков с предрасположенностью к развитию заболевания. Однако для лечения прогрессирующего заболевания все еще необходимы новые терапевтические методы.

ЭВЛ при эозинофильной астме

ЭВЛ формируются в дыхательных путях пациентов с аллергической астмой [1, 26]. Помимо наличия ЭВЛ, наблюдали присутствие НВЛ при биопсии дыхательных путей, и в этом случае выделенная ДНК была митохондриальной и не была связана с гибелью эозинофилов или нейтрофилов [26]. ЭВЛ при астме может повредить легочную паренхиму [26]. ЭВЛ выделяют цитотоксические катионные белки, которые могут усугублять повреждение дыхательных путей и приводить к их ремоделированию [1], но ЭВЛ могут выполнять и защитную функцию, предотвращая распределение цитотоксических белков в тканях легких, и могут быть полезны для защиты дыхательных путей от микроорганизмов [1, 26].

Как сообщалось в 2014 г., при исследовании мышинной модели аллергической астмы, по-

сле провокации овалбумином, продукция ЭВЛ в жидкости при бронхоальвеолярном лаваже наблюдалась как *in vivo*, так и *in vitro* [10].

В работе E. Gevaert с соавт. 2017 г. отмечалось усиление формирования ЭВЛ в слизистой оболочке дыхательных путей у пациентов с тяжелой астмой [14].

В исследовании Y. Choi с соавт. 2018 г. [27] впервые было продемонстрировано негативное действие эозинофилов путем выработки ЭВЛ при астме. Эозинофилы от пациентов с тяжелой эозинофильной астмой были более активированы в отношении ЭВЛ, чем эозинофилы от пациентов с нетяжелой эозинофильной астмой. Кроме того, процент эозинофилов, образующих ЭВЛ, отрицательно коррелировал с исходным уровнем ОФВ1 и положительно коррелировал с уровнями эозинофильного нейротоксина (eosinophil-derived neurotoxin, EDN) в сыворотке у пациентов с астмой. Эозинофилы периферической крови, выделенные у пациентов с тяжелой эозинофильной астмой, обладали повышенной способностью к продукции ЭВЛ после активации ИЛ-5 и липополисахаридом в зависимости от уровня АФК. Эти результаты показывают, что увеличение ЭВЛ тесно связано с воспалением дыхательных путей и обструкцией у пациентов с тяжелой эозинофильной астмой. В исследовании также было продемонстрировано, что ЭВЛ способствовали отслоению эпителия дыхательных путей, что увеличивало его проницаемость и усиливало воспаление при астме.

Многие предыдущие исследования были сосредоточены на изучении ингибирования цитотоксических гранулярных белков эозинофилов (главного щелочного (или основного) протеина и ЕСР) с целью регуляции иммунных реакций в эпителии дыхательных путей [28, 29]. Было установлено, что антитела против ЕСР значительно снижали ЭВЛ-опосредованную продукцию провоспалительных цитокинов эпителиальными клетками дыхательных путей [27, 30, 31].

Интересно, что эксперименты *in vitro* показали, что фармакологически значимые концентрации дексаметазона не приводили к снижению образования ЭВЛ, что может быть одним из механизмов устойчивого воспаления у стероид-резистентных пациентов с бронхиальной астмой. Полученные данные свидетельствуют о том, что необходимы исследования лекарственных препаратов для подавления образования ЭВЛ у пациентов с тяжелой эозинофильной астмой [27].

Тучные клетки участвуют в патогенезе тяжелой эозинофильной астмы. Они продуцируют гистамин и цитокины 2-го типа (ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-13), которые регулируют развитие и активацию эозинофильного воспаления [32]. В данном исследовании [27] изучалось влияние ЭВЛ на тучные клетки. Однако ЭВЛ не вызывали значительное увеличение дегрануляции тучных клеток и продукции ими цитокинов.

Недавние наблюдения Е. Dunican с соавт. (2018 г.) [33] показали, что наличие слизистых пробок у пациентов с астмой (58% пациентов с астмой по сравнению с 4,5% здоровых добровольцев) коррелировало с эозинофилией дыхательных путей и повышенным содержанием эозинофильной пероксидазы (eosinophil peroxidase, ЕРХ/ЕРО), а также было связано со снижением функции легких. У пациентов с астмой с повышенной эозинофильной активностью (на что указывает увеличение ЕРХ) может наблюдаться потеря иммунной толерантности, увеличение содержания локальных аутоантител и генерация ЭВЛ, что способствует гиперплазии бокаловидных клеток и приводит к образованию высоковязких слизистых пробок, блокирующих дыхательные пути.

Имеются данные, что при респираторной аллергии лишь небольшое количество эозинофилов подвергается некрозу или апоптозу [34]. Свободные эозинофильные гранулы были обнаружены после цитолиза эозинофилов при различных респираторных заболеваниях, таких как астма, ринит и риносинусит [3, 34, 35, 36]. ЭВЛ могут играть важную роль в патогенезе эозинофильного воспаления дыхательных путей путем активации эозинофилов и эпителиальных клеток. Следовательно, регуляция формирования или функционирования ЭВЛ может быть новым подходом к лечению пациентов с астмой.

ЭВЛ при грибковой инфекции

В исследовании А. Omokawa с соавт. 2018 г. впервые было установлено формирование ЭВЛ при грибковом заболевании (аллергический бронхолегочный аспергиллез). У пациентов происходило интенсивное накопление эозинофилов в бронхиальных секретах и были выявлены нитевидные структуры, которые окрашивались на антитела против гистона H1. Также были обнаружены кластеры свободных гранул эозинофилов, прикрепленных к ловушкам ДНК [5].

ЭВЛ при атеротромбозе

Нейтрофилы и макрофаги, и в меньшей степени тучные клетки и эозинофилы, генерируют внеклеточные ловушки (ВЛ) при атеротромбозе. В свою очередь, формирование ВЛ охватывает все стадии развития коронарного тромбоза. Различные типы лейкоцитов и их ВЛ в зависимости от временного промежутка участвуют в образовании и росте тромба. Изучение роли ВЛ при атеротромбозе важно, так как оно может обеспечить новые стратегии лечения сердечно-сосудистых заболеваний [37].

Заключение

Таким образом, помимо антимикробной функции, ЭВЛ участвуют в патогенезе эозинофильных заболеваний. Негативное влияние ЭВЛ заключается в выделении цитотоксических катионных белков, которые могут усугублять повреждение тканей, повышать вязкость выделений. Регулирование избыточного ЭЭТоза может быть новым терапевтическим подходом.

Необходимо проводить дальнейшие исследования по изучению роли ЭВЛ при различных заболеваниях с целью выбора правильной терапевтической тактики.

Литература

1. Минина, Е. С. Эозинофильные внеклеточные ловушки: механизмы образования, функции / Е. С. Минина, П. Д. Новиков // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2019. – № 2. – С. 48–58.
2. Catapult-like release of mitochondrial DNA by eosinophils contributes to antibacterial defense / S. Yousefi [et al.] // Nat. Med. – 2008 Sep. – Vol. 14, N 9. – P. 949–953.
3. Eosinophil extracellular DNA trap cell death mediates lytic release of free secretion-competent eosinophil granules in humans / S. Ueki [et al.] // Blood. – 2013 Mar. – Vol. 121, N 11. – P. 2074–2083.
4. Eosinophil ETosis-derived DNA traps: their presence in secretions and their functional attributes / S. Ueki [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2016 Jan. – Vol. 137, N 1. – P. 258–267.
5. Mucus plugging in allergic bronchopulmonary aspergillosis: implication of the eosinophil DNA traps / A. Omokawa [et al.] // Allergol. Int. – 2018 Apr. – Vol. 67, N 2. – P. 280–282.
6. Eosinophils release extracellular DNA traps in response to aspergillus fumigatus / V. Muniz [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2018 Feb. – Vol. 141, N 2. – P. 571–585.
7. Eosinophil and neutrophil extracellular DNA traps in human allergic asthmatic airways / R. Dworski [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2011 May. – Vol. 127, N 5. – P. 1260–1266.
8. Eosinophil extracellular DNA traps in skin diseases / D. Simon [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2011 Jan. – Vol.

- 127, N 1. – P. 194–199.
9. Extensive accumulation of eosinophil extracellular traps in bullous delayed-pressure urticaria: a pathophysiological link? / A. Kerstan [et al.] // *Br. J. Dermatol.* – 2012 May. – Vol. 166, N 5. – P. 1151–1152.
10. Extracellular DNA traps in bronchoalveolar fluid from a murine eosinophilic pulmonary response / A. Cunha [et al.] // *Allergy.* – 2014 Dec. – Vol. 69, N 12. – P. 1696–1700.
11. Active eosinophilic esophagitis is characterized by epithelial barrier defects and eosinophil extracellular trap formation / D. Simon [et al.] // *Allergy.* – 2015 Apr. – Vol. 70, N 4. – P. 443–452.
12. Gon, Y. Role of airway epithelial barrier dysfunction in pathogenesis of asthma / Y. Gon, S. Hashimoto // *Allergol. Int.* – 2018 Jan. – Vol. 67, N 1. – P. 12–17.
13. Kim, B. E. Significance of skin barrier dysfunction in atopic dermatitis / B. E. Kim, D. Y. M. Leung // *Allergy Asthma Immunol. Res.* – 2018 May. – Vol. 10, N 3. – P. 207–215.
14. Extracellular eosinophilic traps in association with *Staphylococcus aureus* at the site of epithelial barrier defects in patients with severe airway inflammation / E. Gevaert [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2017 Jun. – Vol. 139, N 6. – P. 1849–1860.
15. Toxicity of eosinophil MBP is repressed by intracellular crystallization and promoted by extracellular aggregation / A. Soragni [et al.] // *Mol. Cell.* – 2015 Mar. – Vol. 57, N 6. – P. 1011–1021.
16. Periostin facilitates eosinophil tissue infiltration in allergic lung and esophageal responses / C. Blanchard [et al.] // *Mucosal. Immunol.* – 2008 Jul. – Vol. 1, N 4. – P. 289–296.
17. Persson, C. Lytic eosinophils produce extracellular DNA traps as well as free eosinophil granules / C. Persson, S. Ueki // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2018 Mar. – Vol. 141, N 3. – P. 1164.
18. Thymic stromal lymphopoietin stimulates the formation of eosinophil extracellular traps / M. Morshed [et al.] // *Allergy.* – 2012 Sep. – Vol. 67, N 9. – P. 1127–1137.
19. TSLP: an epithelial cell cytokine that regulates T cell differentiation by conditioning dendritic cell maturation / Y. Liu [et al.] // *Annu. Rev. Immunol.* – 2007. – Vol. 25. – P. 193–219.
20. Shapiro, S. D. The pathogenesis of emphysema: the elastase:antielastase hypothesis 30 years later / S. D. Shapiro // *Proc. Assoc. Am. Physicians.* – 1995 Oct. – Vol. 107, N 3. – P. 346–352.
21. Neutrophil apoptosis: relevance to the innate immune response and inflammatory disease / S. Fox [et al.] // *J. Innate Immun.* – 2010. – Vol. 2, N 3. – P. 216–227.
22. Eosinophilic inflammation in COPD: prevalence and clinical characteristics / D. Singh [et al.] // *Eur. Respir. J.* – 2014 Dec. – Vol. 44, N 6. – P. 1697–1700.
23. Evidence of eosinophil extracellular trap cell death in COPD: does it represent the trigger that switches on the disease? / L. Uribe Echevarria [et al.] // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* – 2017 Mar. – Vol. 12. – P. 885–896.
24. Neutrophil extracellular trap (NET) formation characterises stable and exacerbated COPD and correlates with airflow limitation / F. Grabcanovic-Musija [et al.] // *Respir. Res.* – 2015 May. – Vol. 16. – P. 59.
25. Evidence of eosinophil extracellular trap cell death in COPD: does it represent the trigger that switches on the disease? / L. Uribe Echevarria [et al.] // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* – 2017 Mar. – Vol. 12. – P. 885–896.
26. Simon, D. Extracellular DNA traps in allergic, infectious, and autoimmune diseases / D. Simon, H. U. Simon, S. Yousefi // *Allergy.* – 2013 Apr. – Vol. 68, N 4. – P. 409–416.
27. Biological function of eosinophil extracellular traps in patients with severe eosinophilic asthma / Y. Choi [et al.] // *Exp. Mol. Med.* – 2018 Aug. – Vol. 50, N 8. – P. 104.
28. Interleukins (from IL-1 to IL-38), interferons, transforming growth factor beta, and TNF-alpha: receptors, functions, and roles in diseases / M. Akdis [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2016 Oct. – Vol. 138, N 4. – P. 984–1010.
29. Antibody to eosinophil cationic protein suppresses dextran sulfate sodium-induced colitis in rats / K. Shichijo [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2005 Aug. – Vol. 11, N 29. – P. 4505–4510.
30. Sputum autoantibodies in patients with severe eosinophilic asthma / M. Mukherjee [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2018 Apr. – Vol. 141, N 4. – P. 1269–1279.
31. Sputum ANCA in serum ANCA-negative eosinophilic granulomatosis with polyangiitis / M. Mukherjee [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* – 2019 Jan. – Vol. 199, N 2. – P. 158–170.
32. Bradding, P. The role of the mast cell in the pathophysiology of asthma / P. Bradding, A. Walls, S. Holgate // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2006 Jun. – Vol. 117, N 6. – P. 1277–1284.
33. Mucus plugs in patients with asthma linked to eosinophilia and airflow obstruction / E. Dunican [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2018 Mar. – Vol. 128, N 3. – P. 997–1009.
34. Allergen-induced eosinophil cytolysis is a primary mechanism for granule protein release in human upper airways / J. Erjefalt [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* – 1999 Jul. – Vol. 160, N 1. – P. 304–312.
35. Eosinophil-derived cytokines in health and disease: unraveling novel mechanisms of selective secretion / R. Melo [et al.] // *Allergy.* – 2013 Mar. – Vol. 68, N 3. – P. 274–284.
36. Eosinophil secretion of granule-derived cytokines / L. Spencer [et al.] // *Front. Immunol.* – 2014. – Vol. 5. – P. 496.
37. Extracellular traps derived from macrophages, mast cells, eosinophils and neutrophils are generated in a time-dependent manner during atherothrombosis / K. R. Pertiwi [et al.] // *J. Pathol.* – 2019 Apr. – Vol. 247, N 4. – P. 505–512.

Поступила 27.06.2019 г.

Принята в печать 27.09.2019 г.

References

1. Minina ES, Novikov PD. Eosinophilic extracellular traps: mechanisms of formation, functions. *Immunopatologiya Allergologiya Infektologiya*. 2019;(2):48-58. (In Russ.)
2. Yousefi S, Gold JA, Andina N, Lee JJ, Kelly AM, Kozlowski E, et al. Catapult-like release of mitochondrial DNA by eosinophils contributes to antibacterial defense. *Nat. Med.* 2008 Sep;14(9):949-53. doi: 10.1038/nm.1855
3. Ueki S, Melo RC, Ghiran I, Spencer LA, Dvorak AM, Weller PF. Eosinophil extracellular DNA trap cell death mediates lytic release of free secretion-competent eosinophil granules in humans. *Blood*. 2013 Mar;121(11):2074-83. doi: 10.1182/blood-2012-05-432088

4. Ueki S, Konno Y, Takeda M, Moritoki Y, Hirokawa M, Matsuwaki Y, et al. Eosinophil ETosis-derived DNA traps: their presence in secretions and their functional attributes. *J Allergy Clin Immunol*. 2016 Jan;137(1):258-267. doi: 10.1016/j.jaci.2015.04.041
5. Omokawa A, Ueki S, Kikuchi Y, Takeda M, Asano M, Sato K, et al. Mucus plugging in allergic bronchopulmonary aspergillosis: implication of the eosinophil DNA traps. *Allergol Int*. 2018 Apr;67(2):280-282. doi: 10.1016/j.alit.2017.08.002
6. Muniz VS, Silva JC, Braga YAV, Melo RCN, Ueki S, Takeda M, et al. Eosinophils release extracellular DNA traps in response to *aspergillus fumigatus*. *J Allergy Clin Immunol*. 2018 Feb;141(2):571-585.e7. doi: 10.1016/j.jaci.2017.07.048
7. Dworski R, Simon HU, Hoskins A, Yousefi S. Eosinophil and neutrophil extracellular DNA traps in human allergic asthmatic airways. *J Allergy Clin Immunol*. 2011 May;127(5):1260-6. doi: 10.1016/j.jaci.2010.12.1103
8. Simon D, Hoesli S, Roth N, Staedler S, Yousefi S, Simon HU. Eosinophil extracellular DNA traps in skin diseases. *J Allergy Clin Immunol*. 2011 Jan;127(1):194-9. doi: 10.1016/j.jaci.2010.11.002
9. Kerstan A, Simon HU, Yousefi S, Leverkus M. Extensive accumulation of eosinophil extracellular traps in bullous delayed-pressure urticaria: a pathophysiological link? *Br J Dermatol*. 2012 May;166(5):1151-2. doi: 10.1111/j.1365-2133.2012.10848.x
10. Cunha AA, Porto BN, Nuñez NK, Souza RG, Vargas MH, Silveira JS, et al. Extracellular DNA traps in bronchoalveolar fluid from a murine eosinophilic pulmonary response. *Allergy*. 2014 Dec;69(12):1696-700. doi: 10.1111/all.12507
11. Simon D, Radonjic-Hösli S, Straumann A, Yousefi S, Simon HU. Active eosinophilic esophagitis is characterized by epithelial barrier defects and eosinophil extracellular trap formation. *Allergy*. 2015 Apr;70(4):443-52. doi: 10.1111/all.12570
12. Gon Y, Hashimoto S. Role of airway epithelial barrier dysfunction in pathogenesis of asthma. *Allergol Int*. 2018 Jan;67(1):12-17. doi: 10.1016/j.alit.2017.08.011
13. Kim BE, Leung DYM. Significance of skin barrier dysfunction in atopic dermatitis. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2018 May;10(3):207-215. doi: 10.4168/aair.2018.10.3.207
14. Gevaert E, Zhang N, Krysko O, Lan F, Holtappels G, De Ruyck N, et al. Extracellular eosinophilic traps in association with *Staphylococcus aureus* at the site of epithelial barrier defects in patients with severe airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2017 Jun;139(6):1849-1860.e6. doi: 10.1016/j.jaci.2017.01.019
15. Soragni A, Yousefi S, Stoeckle C, Soriaga AB, Sawaya MR, Kozlowski E, et al. Toxicity of eosinophil MBP is repressed by intracellular crystallization and promoted by extracellular aggregation. *Mol Cell*. 2015 Mar;57(6):1011-1021. doi: 10.1016/j.molcel.2015.01.026
16. Blanchard C, Mingler MK, McBride M, Putnam PE, Collins MH, Chang G, et al. Periostin facilitates eosinophil tissue infiltration in allergic lung and esophageal responses. *Mucosal Immunol*. 2008 Jul;1(4):289-96. doi: 10.1038/mi.2008.15
17. Persson C, Ueki S. Lytic eosinophils produce extracellular DNA traps as well as free eosinophil granules. *J Allergy Clin Immunol*. 2018 Mar;141(3):1164. doi: 10.1016/j.jaci.2017.05.047
18. Morshed M, Yousefi S, Stöckle C, Simon HU, Simon D. Thymic stromal lymphopoietin stimulates the formation of eosinophil extracellular traps. *Allergy*. 2012 Sep;67(9):1127-37. doi: 10.1111/j.1398-9995.2012.02868.x
19. Liu YJ, Soumelis V, Watanabe N, Ito T, Wang YH, Malefyt Rde W, et al. TSLP: an epithelial cell cytokine that regulates T cell differentiation by conditioning dendritic cell maturation. *Annu Rev Immunol*. 2007;25:193-219. doi: 10.1146/annurev.immunol.25.022106.141718
20. Shapiro SD. The pathogenesis of emphysema: the elastase:antielastase hypothesis 30 years later. *Proc Assoc Am Physicians*. 1995 Oct;107(3):346-52.
21. Fox S, Leitch AE, Duffin R, Haslett C, Rossi AG. Neutrophil apoptosis: relevance to the innate immune response and inflammatory disease. *J Innate Immun*. 2010;2(3):216-27. doi: 10.1159/000284367
22. Singh D, Kolsum U, Brightling CE, Locantore N, Agusti A, Tal-Singer R. Eosinophilic inflammation in COPD: prevalence and clinical characteristics. *Eur Respir J*. 2014 Dec;44(6):1697-700. doi: 10.1183/09031936.00162414
23. Uribe Echevarria L, Leimgruber C, García González J, Nevado A, Álvarez R, García LN, et al. Evidence of eosinophil extracellular trap cell death in COPD: does it represent the trigger that switches on the disease? *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2017 Mar;12:885-896. doi: 10.2147/COPD.S115969
24. Grabcanovic-Musija F, Obermayer A, Stoiber W, Krautgartner WD, Steinbacher P, Winterberg N, et al. Neutrophil extracellular trap (NET) formation characterises stable and exacerbated COPD and correlates with airflow limitation. *Respir Res*. 2015 May;16:59. doi: 10.1186/s12931-015-0221-7
25. Uribe Echevarria L, Leimgruber C, García González J, Nevado A, Álvarez R, García LN, et al. Evidence of eosinophil extracellular trap cell death in COPD: does it represent the trigger that switches on the disease? *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2017 Mar ;12:885-896. doi: 10.2147/COPD.S115969
26. Simon D, Simon HU, Yousefi S. Extracellular DNA traps in allergic, infectious, and autoimmune diseases. *Allergy*. 2013 Apr;68(4):409-16. doi: 10.1111/all.12111
27. Choi Y, Le Pham D, Lee D-H, Lee S-H, Kim S-H, Park H-S. Biological function of eosinophil extracellular traps in patients with severe eosinophilic asthma. *Exp Mol Med*. 2018 Aug;50(8):104. doi: 10.1038/s12276-018-0136-8
28. Akdis M, Aab A, Altunbulakli C, Azkur K, Costa RA, Crameri R, et al. Interleukins (from IL-1 to IL-38), interferons, transforming growth factor beta, and TNF-alpha: receptors, functions, and roles in diseases. *J Allergy Clin Immunol*. 2016 Oct;138(4):984-1010. doi: 10.1016/j.jaci.2016.06.033
29. Shichijo K, Makiyama K, Wen CY, Matsuu M, Nakayama T, Nakashima M, et al. Antibody to eosinophil cationic protein suppresses dextran sulfate sodium-induced colitis in rats. *World J Gastroenterol*. 2005 Aug;11(29):4505-10. doi: 10.3748/wjg.v11.i29.4505
30. Mukherjee M, Bulir DC, Radford K, Kjarsgaard M, Huang CM, Jacobsen EA, Ochkur SI, et al. Sputum autoantibodies in patients with severe eosinophilic asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2018 Apr;141(4):1269-1279. doi: 10.1016/j.jaci.2017.06.033
31. Mukherjee M, Thomas SR, Radford K, Dvorkin-Gheva

- A, Davydchenko S, Kjarsgaard M, et al. Sputum ANCA in serum ANCA-negative eosinophilic granulomatosis with polyangiitis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2019 Jan;199(2):158-170. doi: 10.1164/rccm.201804-0809OC
32. Bradding P, Walls A, Holgate S. The role of the mast cell in the pathophysiology of asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2006 Jun;117(6):1277-84
 33. Dunican EM, Elicker BM, Gierada DS, Nagle SK, Schiebler ML, Newell JD, et al. Mucus plugs in patients with asthma linked to eosinophilia and airflow obstruction. *J Clin Invest.* 2018 Mar;128(3):997-1009. doi: 10.1172/JCI95693
 34. Erjefält JS, Greiff L, Andersson M, Matsson E, Petersen H, Linden M, et al. Allergen-induced eosinophil cytotoxicity is a primary mechanism for granule protein release in human upper airways. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999 Jul;160(1):304-12.
 35. Melo RC, Liu L, Xenakis JJ, Spencer LA. Eosinophil-derived cytokines in health and disease: unraveling novel mechanisms of selective secretion. *Allergy.* 2013 Mar;68(3):274-84. doi: 10.1111/all.12103
 36. Spencer L, Bonjour K, Melo RCN, Weller PF. Eosinophil secretion of granule-derived cytokines. *Front Immunol.* 2014;5:496. doi: 10.3389/fimmu.2014.00496
 37. Pertiwi KR, de Boer OJ, Mackaaij C, Pabittei DR, de Winter RJ, Li X, et al. Extracellular traps derived from macrophages, mast cells, eosinophils and neutrophils are generated in a time-dependent manner during atherothrombosis. *J Pathol.* 2019 Apr;247(4):505-512. doi: 10.1002/path.5212

Submitted 27.06.2019

Accepted 27.09.2019

Сведения об авторах:

Минина Е.С. – к.м.н., ассистент кафедры педиатрии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Новиков П.Д. – д.м.н., профессор кафедры клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Сенькович С.А. – к.м.н., доцент кафедры клинической микробиологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

Information about authors:

Minina E.S. – Candidate of Medical Sciences, lecturer of the Chair of Pediatrics, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Novikov P.D. – Doctor of Medical Sciences, professor of the Chair of Clinical Immunology and Allergology with the course of the Faculty for Advanced Training and Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Senkovich S.A. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Clinical Microbiology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра педиатрии. E-mail: minina.e.s@mail.ru – Минина Елена Сергеевна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Pediatrics. E-mail: minina.e.s@mail.ru – Elena S. Minina.

ВИДОВАЯ СТРУКТУРА МИКРООРГАНИЗМОВ, ВХОДЯЩИХ В СОСТАВ МИКРОБИОЦЕНОЗОВ ПЛАВАТЕЛЬНЫХ БАССЕЙНОВ

ПУГАЧ В.В.

Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, г. Минск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2019. – Том 18, №5. – С. 35-44.

SPECIES COMPOSITION OF MICROORGANISMS BEING A PART OF MICROBIOCENOSIS OF THE SWIMMING-POOLS

PUGACH V.V.

Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2019;18(5):35-44.

Резюме.

Цель исследования – установить видовое разнообразие микроорганизмов, входящих в состав микробиоценозов плавательных бассейнов (ПБ).

Материал и методы. Исследованы пробы воды и смывы с поверхностей помещений и технологического оборудования 9 ПБ. Отбор проб воды и смывов, их транспортировка и исследование проводились в соответствии с действующим законодательством. Идентификация выявленных микроорганизмов осуществлялась на основании культуральных, морфологических и биохимических признаков, а также с помощью анализатора Vitek 2 Compact (Biomerieux, Франция).

Результаты. Выявлено 95 (46,1%) штаммов грамотрицательных бактерий (ГОб), 86 (41,7%) штаммов грамположительных бактерий (ГПБ), 11 (5,3%) штаммов плесневых грибов, 8 (3,9%) штаммов возбудителей дерматофитий и 6 (2,9%) штаммов дрожжеподобных грибов.

Большая часть штаммов выявлена в смывах со стен душевых (67 штаммов, 32,5%) и ножных ванн (61 штамм, 29,6%), наименьшая часть – в пробах воды, отобранных с глубины 25 см от поверхности зеркала воды (8 штаммов, 3,9%).

Уровень контаминации объектов внешней среды ПБ чаще всего составлял 10^3 КОЕ/мл, при этом 61% микроорганизмов был выявлен в количестве 10^3 - 10^7 КОЕ/мл.

Наибольшее количество выявленных ГПБ принадлежало к роду *Staphylococcus* (40 штаммов, 46,5%), на долю *S. aureus* приходится 32,5% выявленных стафилококков. В структуре ГОб доминирующей группой были неферментирующие ГОб (НГОБ) – идентифицировано 84 штамма НГОБ, составляющие 88,4% выявленных ГОб.

Заключение. Низкие уровни контаминации воды ПБ не могут являться достоверным и достаточным показателем их микробиологической безопасности. Высокие уровни контаминации объектов внешней среды являются предпосылкой для инфицирования посетителей бассейнов, роста количества случаев инфекций, ассоциированных с посещением ПБ, особенно среди иммунокомпрометированных лиц.

Ключевые слова: плавательные бассейны, контаминация, внешняя среда, микроорганизмы.

Abstract.

Objectives. To determine species composition of microorganisms (MO), being a part of microbiocenosis of the swimming – pools (SP).

Material and methods. Water samples and swabs from the surfaces of the premises and technological equipment were taken from 9 SP. Sampling, transportation and analysis were provided according to active legislation. MO identification resulted from bacteriological survey and with the help of the analyzer Vitek 2 Compact (Biomerieux, France).

Results. 95 (46.1%) strains of gram-negative bacteria (GNB), 86 (41.7%) strains of gram-positive bacteria (GPB), 11 (5.3%) strains of molds, 8 (3.9%) strains of dermatophytes and 6 (2.9%) strains of yeast-like MO were isolated.

The majority of all strains were isolated from the walls in shower-baths (67 strains, 32.5%) and foot baths (61 strain, 29.6%), the minority were found in water samples taken from 25 cm depth (8 strains, 3.9%). The most frequent contamination level in the SP was 10^3 CFU/ml, 61% of MO were isolated in quantities of 10^3 - 10^7 CFU/ml.

The majority of GPB belonged to *Staphylococcus spp.* (40 strains, 46.5%). The part of *S. aureus* (13 strains) made up 32.5% of all staphylococci found. In the structure of GNB the group of non-fermentative bacteria (NGNB) prevailed (84 strains (88.4% of GNB)).

Conclusions. Low contamination levels of SP water cannot serve as an accurate and sufficient indicator of their microbiological safety. High levels of environmental contamination with MO create a pre-condition for SP visitors of getting an infection, which may lead to the increased quantity of infections, associated with the SP visits, especially among immunocompromised persons.

Key words: swimming-pools, contamination, environment, microorganisms.

Особое место в обеспечении эпидемического благополучия населения принадлежит санитарно-противоэпидемическим мероприятиям, направленным на контроль состояния объектов среды обитания человека. При этом наиболее значимыми являются вопросы обеспечения безопасности объектов, предназначенных для массового посещения, в числе первых – плавательные бассейны. Многие условно-патогенные микроорганизмы (УПМ) способны длительное время выживать в условиях повышенной влажности и/или водной среды, а также накапливаться в количествах, достаточных для развития инфекционного процесса при контакте с ними [1].

Многие УПМ характеризуются выраженной способностью к колонизации, следствием чего является частое обнаружение их в составе микрофлоры кожи и слизистых оболочек человека и животных, что в свою очередь обуславливает множественность механизмов и путей передачи этих микроорганизмов. Такие бактерии, как стафилококки и стрептококки, бактерии родов *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Listeria* и *Clostridium* являются известными и широко распространёнными возбудителями различных форм инфекционных заболеваний. Среди грамотрицательных микроорганизмов наибольшую медицинскую значимость имеют представители семейств *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae*, а также ряд неферментирующих грамотрицательных бактерий (НГОВБ).

В ПБ как в объектах антропогенного происхождения имеются предпосылки для сохранения, накопления и циркуляции микроорганизмов, играющих значимую роль в патологии человека. Существование этих микроорганизмов в пределах одной популяции способно существенно повышать их патогенный потенциал, в первую очередь, за счёт накопления в количествах, доста-

точных для инфицирования людей, что особенно важно в случае посещения ПБ иммунокомпрометированными лицами.

Цель исследования – дать характеристику видового разнообразия микроорганизмов, входящих в состав микробиоценоза ПБ.

Материал и методы

Материалом для данного исследования послужили пробы воды, отобранные из чаш ПБ с глубины 1 см (по 2 пробы на ПБ) и 25 см (по 2 пробы на ПБ) от поверхности зеркала воды, а также смывы с поверхностей помещений (стены зала бассейна и стены душевых) и технологического оборудования (ножные ванны и чаша бассейна) ПБ (по 2 смыва для определения состава бактериальной микрофлоры с каждого вида исследованных поверхностей, а также по 2 смыва для определения состава грибковой микрофлоры с каждого вида исследованных поверхностей). Материал для исследования был отобран в 9 ПБ г. Минска, в том числе 4 спортивных, 2 общественных, 1 школьном ПБ, а также 2 ПБ, функционирующих при учреждениях здравоохранения. 8 из 9 включённых в исследование ПБ относились к ПБ рециркуляционного типа, а 1 – к ПБ проточного типа. Химический метод дезинфекции воды применялся во всех включённых в исследование ПБ рециркуляционного типа, при этом в 7 из 8 ПБ применялись хлорсодержащие дезинфектанты, а в 1 – перекись водорода (в составе автоматизированной системы для комбинированной дезинфекции воды с помощью перекиси водорода и ультрафиолетового излучения). Отбор проб из одного и того же ПБ осуществляли однократно и в соответствии с требованиями нормативных правовых актов, действующих на территории Республики Беларусь [2-4]. Отбор смывов с поверх-

ностей помещений и технологического оборудования ПБ осуществляли при помощи стерильных марлевых салфеток размером 5×5 см в четырёх точках поверхности объекта с площади 100 см². Непосредственно перед взятием смыва марлевые салфетки смачивали в стерильном растворе универсального нейтрализатора дезинфицирующих средств [5]. Смывы с поверхностей чаш ПБ отбирали на границе раздела фаз «вода-воздух», с других видов поверхностей – в местах наиболее вероятной и массивной контаминации (межплиточные швы, щели вокруг сливных отверстий ножных ванн и т. п.). После отбора смыва марлевые салфетки погружали в стерильный 0,9%-ный раствор хлорида натрия (для последующего исследования на грибковую микрофлору) или в 0,2%-ную пептонную воду (для последующего исследования на бактериальную микрофлору) и плотно укупоривали. Пробы воды и смывы маркировали, доставляли в лабораторию не позднее 2 часов с момента отбора и подвергали микробиологическому исследованию, при этом определяли видовую принадлежность и количество в 1 мл пробы воды или смыва всех выявленных микроорганизмов. Идентификация выявленных микроорганизмов осуществлялась на основании морфологических, культуральных и биохимических признаков [6]. В случае получения сомнительных результатов при использовании вышеперечисленных методов, идентификация проводилась с помощью автоматического микробиологического анализатора Vitek 2 Compact (Biomerieux, Франция). Статистическую обработку данных проводили с применением программы Microsoft Office Excel 2010, а также пакета для статистической обработки данных Statistica 10.

Результаты

Микробиологическому исследованию были подвергнуты в общей сложности 36 проб воды и 144 смыва с поверхностей помещений и технологического оборудования ПБ (далее – образцы). Микробная контаминация была выявлена в 156 (86,7%) исследованных образцах. Информация о количестве отдельных видов образцов, из которых был получен рост микрофлоры, представлена в таблице 1.

Как следует из приведённой в таблице 1 информации, подавляющее большинство исследованных образцов были контаминированы культивируемыми микроорганизмами. Наибольшее количество контаминированных образцов было выявлено при анализе смывов со стен душевых, наименьшее – при исследовании проб воды.

Контаминация грамположительными микроорганизмами (ГПМ) была выявлена в 76 образцах (48,7%). В общей сложности было выделено 92 штамма ГПМ, в том числе 86 штаммов грамположительных бактерий и 6 штаммов дрожжеподобных грибов. При этом наибольшее количество штаммов ГПМ было выявлено в смывах со стен душевых (36 штаммов, 39,1%) и ножных ванн (29, 31,5%), наименьшее – в пробах воды с глубины 1 см и 25 см (3,3% и 5,4% соответственно).

В результате видовой идентификации выявленных ГПМ установлено, что их видовое разнообразие велико и включает в себя 24 таксономические единицы. В целом, ГПМ выявлялись в количествах от 10¹ КОЕ/мл до 10⁶ КОЕ/мл, однако наибольшее количество штаммов было выявлено в количестве 10² КОЕ/мл (33 штамма, 35,9%). С

Таблица 1 – Микробная контаминация проб воды и смывов с поверхностей помещений и технологического оборудования плавательных бассейнов

Объект внешней среды	Общее количество образцов, шт.	Количество положительных образцов		Количество отрицательных образцов	
		Абс., шт.	Отн., %	Абс., шт.	Отн., %
Вода (25 см)	18	12	66,7%	6	33,3%
Вода (1 см)	18	12	66,7%	6	33,3%
Ножные ванны	36	32	88,9%	4	11,1%
Стены душевых	36	36	100,0%*	0	0,0%*
Стены зала бассейна	36	32	88,9%	4	11,1%
Чаша бассейна	36	32	88,9%	4	11,1%

Примечание: * – различия в относительных количествах по сравнению с группами «Вода (25 см)» и «Вода (1 см)» достоверны. Достоверность различий определялась при помощи точного критерия Фишера при уровне значимости $p < 0,05$.

целью удобства обработки данных и отображения её результатов все выявленные ГПМ были распределены по 5 группам в зависимости от их морфологических и биохимических особенностей. Распределение выявленных штаммов ГПМ по группам представлено на рисунке 1.

В исследованных образцах в подавляющем большинстве случаев (71,74%) выявлялись бактерии, относящиеся к группам стафилококков и стафилококкоподобных микроорганизмов. При этом большинство выявленных штаммов ГПМ относились к роду *Staphylococcus*. Наименьшее количество выявленных микроорганизмов было идентифицировано как *Bacillus spp.* и различные виды дрожжеподобных грибов.

Информация о частоте выявления ГПМ в различных объектах внешней среды ПБ, а также об их видовой принадлежности представлена на рисунке 2.

Доминирующим видом стафилококков был *S. hominis* – на его долю приходится 40% в структуре выявленных *Staphylococcus spp.* На втором месте по количеству выявленных штаммов находится *S. aureus* (30%). Наименьшее количество штаммов среди выявленных стафилококков приходится на *S. pseudintermedius*, доля которого составляет 5%. При этом микроорганизмы рода *Staphylococcus* были выявлены во всех видах исследованных образцов в количествах от 10^1 КОЕ/мл до 10^6 КОЕ/мл. Следует отметить, что 50% и 41,67% выявленных штаммов *S. aureus* были выявлены в смывах со стен душевых и ножных ванн соответственно, в то время как в пробах воды они обнаружены не были.

Группа стафилококкоподобных микроорганизмов состояла из 6 видов микроорганизмов, относящихся к трём близкородственным таксо-

нам. Из 26 выявленных штаммов микроорганизмов этой группы 12 (46,2%) относятся к роду *Kocuria*, при этом наибольшее количество выявленных штаммов этого рода (7; 58,3%) относится к виду *K. kristinae*. 9 из 26 выявленных стафилококкоподобных микроорганизмов (34,6%) были идентифицированы как *Micrococcus luteus / lylae*. Видовая принадлежность 5 (19,2%) штаммов микроорганизмов определена как *Dermaococcus nishinomiyaensis / Kytococcus sedentarius*, что связано, в первую очередь, с близкими биохимическими профилями этих двух микроорганизмов. Массивность контаминации стафилококкоподобными микроорганизмами колебалась в пределах 10^1 - 10^5 КОЕ/мл, при этом наибольшее количество штаммов было выявлено в смывах со стен душевых и поверхностей ножных ванн (10 (38,5%) и 8 (30,8%) штаммов соответственно).

Наибольшее количество штаммов (6; 42,9%) микроорганизмов группы стрептококков и стрептококкоподобных микроорганизмов было выявлено в результате микробиологического исследования смывов с ножных ванн, наименьшее – при исследовании смывов со стен зала бассейна, а также поверхности чаши бассейна (по 1 штамму, 7,1%). Стрептококки и стрептококкоподобные микроорганизмы выявлялись в количестве от 10^1 КОЕ/мл до 10^6 КОЕ/мл, при этом наибольшее количество штаммов микроорганизмов данной группы (4 штамма, 28,6%) идентифицированы как *Granulicatella elegans*.

При микробиологическом исследовании образцов внешней среды ПБ было выявлено 6 штаммов бактерий рода *Bacillus*: по 2 штамма были выявлены в смывах со стен зала бассейна и ножных ванн, а ещё по 1 штамму – в смывах со стен душевых и чаши бассейна. Количество вы-

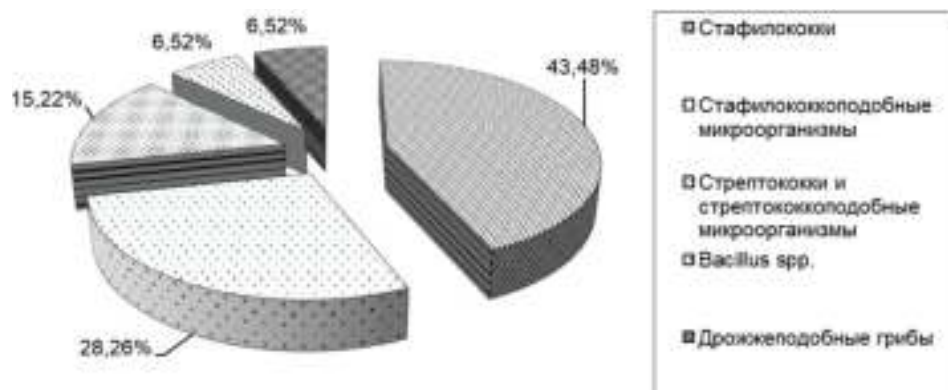


Рисунок 1 – Распределение по группам штаммов грамположительных микроорганизмов (n=92), выявленных в плавательных бассейнах.

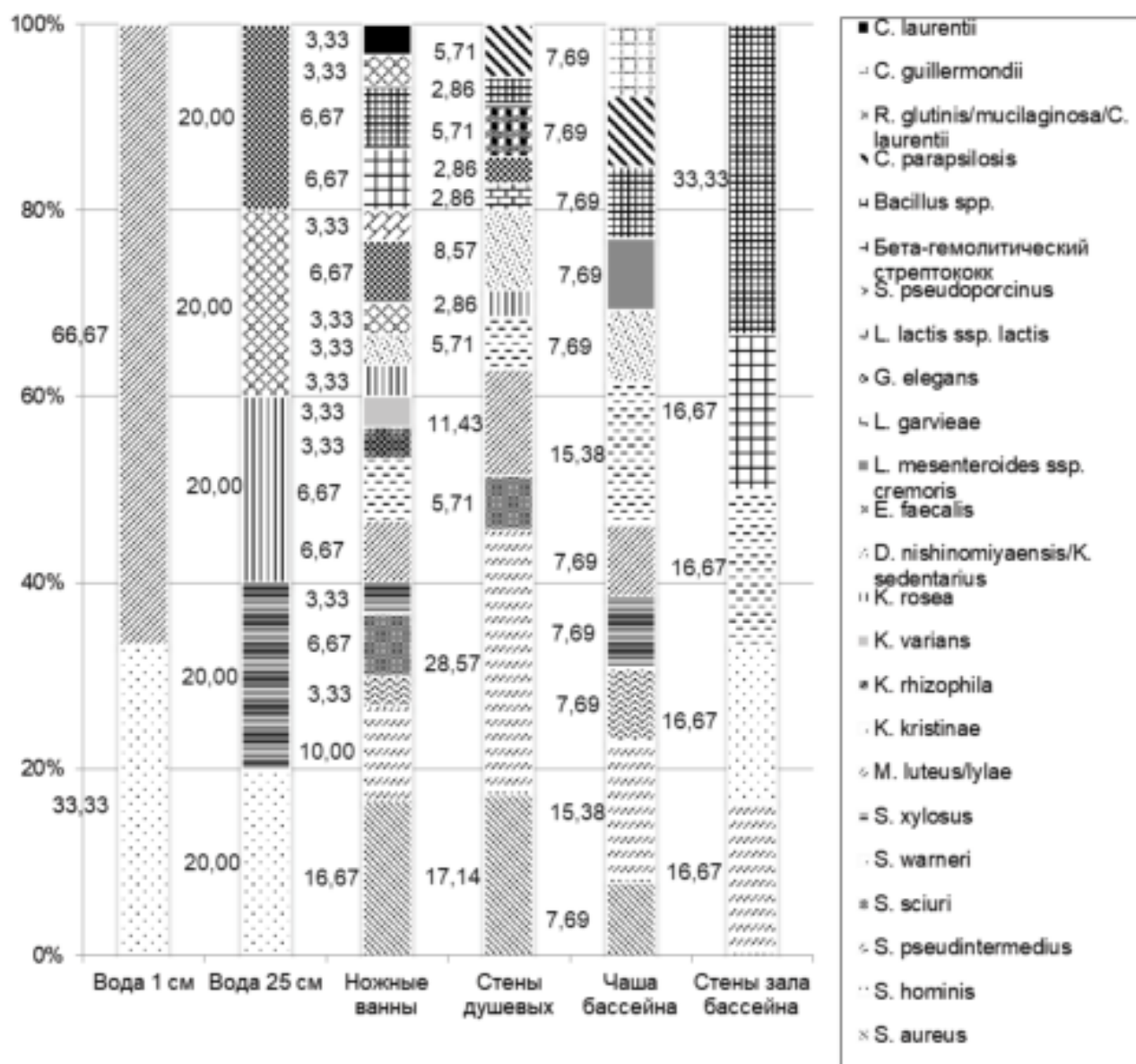


Рисунок 2 – Частота выявления грамположительных микроорганизмов в исследованных образцах объектов внешней среды плавательных бассейнов: в исследованных пробах воды, отобранных с глубины 1 см, выявлено 3 штамма ГПМ, в пробах воды, отобранных с глубины 25 см, – 5 штаммов, в смывах с ножных ванн – 30 штаммов, со стен душевых – 35 штаммов, с чаш бассейнов – 13 штаммов, со стен залов бассейнов – 6 штаммов.

явленных *Bacillus spp.* варьировало в пределах от 10^1 КОЕ/мл до 10^5 КОЕ/мл, при этом в наибольшем титре эти бактерии были выявлены в смывах с ножных ванн.

Выявленные микроорганизмы, идентифицированные как дрожжеподобные грибы, относились к 4 различным видам. Так, 3 штамма из 6 выявленных принадлежали к виду *Candida parapsilosis*, по 1 штамму – *Candida guillermundii*, *Cryptococcus laurentii* и *Rhodotorula glutinis / mucilaginosa*. Выявленные дрожжеподобные грибы обнаружены в количествах от 10^1 КОЕ/мл до

10^4 КОЕ/мл в таких исследованных образцах, как смывы со стен душевых (2 штамма), смывы с ножных ванн (2 штамма) и смывы с чаши бассейна (2 штамма).

В результате проведённой видовой идентификации 95 выявленных штаммов ГОБ было установлено, что в состав микробиоценозов ПБ входят микроорганизмы, относящиеся к 24 таксономическим единицам. В целом, ГОБ выявлялись в количествах от 10^1 КОЕ/мл до 10^7 КОЕ/мл, однако наибольшее количество штаммов было выявлено в количестве 10^3 КОЕ/мл (42

штамма, 44,2%). С целью удобства обработки данных и отображения её результатов все выявленные ГОБ были распределены по 4 группам в зависимости от их морфологических и биохимических особенностей: представители семейства *Enterobacteriaceae*, родов *Pseudomonas*, *Acinetobacter* и группа минорных (относительно редко встречающихся в клинической практике) видов НГОБ и прочих микроорганизмов. Распределение выявленных штаммов ГОБ по группам представлено на рисунке 3.

Подавляющее большинство выявленных в исследованных образцах ГОБ относятся к группе НГОБ (90,5%). При этом наибольший удельный вес в структуре исследованных штаммов ГОБ имеют микроорганизмы, отнесённые к группе минорных видов НГОБ и прочих микроорганизмов (46,3%), а наименьший – представители семейства *Enterobacteriaceae* (9,5%).

Информация о частоте выявления ГОБ в различных объектах внешней среды ПБ, а также об их видовой принадлежности представлена на рисунке 4.

Примечание: в исследованных пробах воды, отобранных с глубины 1 см, выявлено 8 штаммов ГОБ, в пробах воды, отобранных с глубины 25 см, – 3 штамма, в смывах с ножных ванн – 29 штаммов, со стен душевых – 25 штаммов, с чаш бассейнов – 20 штаммов, со стен залов бассейнов – 10 штаммов.

Выявленные представители семейства *Enterobacteriaceae* относились к 5 таксономическим единицам, при этом в большинстве случаев ГОБ этой группы были идентифицированы как *E. coli* и *Pantoea spp.* (по 3 штамма, 33,3%). Больше всего штаммов энтеробактерий было выявлено в

смывах с ножных ванн ПБ (5 штаммов, 55,6%).

Наибольшее количество исследованных штаммов микроорганизмов этой группы были идентифицированы как *A. baumannii complex* (12 штаммов, 66,7%), наименьшее – как *A. haemolyticus* (1 штамм, 5,6%). Наибольшее количество штаммов *Acinetobacter spp.* было выявлено в смывах с поверхностей ножных ванн и чаш ПБ (по 7 штаммов, 38,9%), наименьшее – со стен зала ПБ (1 штамм, 5,6%).

Наибольшее количество штаммов микроорганизмов рода *Pseudomonas* было выявлено в смывах со стен душевых (8 штаммов, 33,3%) и несколько меньше (7 штаммов, 29,2%) – в смывах с ножных ванн ПБ. Более половины выявленных штаммов псевдомонад относились к виду *P. aeruginosa* (13 штаммов, 54,2%), при этом 3 штамма синегнойной палочки были выявлены в пробах воды, отобранных с глубины 1 см. Наименьшее количество штаммов псевдомонад было идентифицировано как *P. alcaligenes* и *P. oleovorans* (по 1 штамму, 4,2%).

В состав последней группы ГОБ входило 10 таксономических единиц микроорганизмов, 9 из которых были идентифицированы как представители минорных видов НГОБ. Наибольшее количество штаммов микроорганизмов этой группы было идентифицировано как *S. paucimobilis* (25 штаммов, 56,8%), наименьшее – как *A. xylosoxidans*, *A. hydrophila*, *A. sobria*, *R. gilardii* и *S. putrefaciens* (по 1 штамму, 2,3%). Следует отметить, что микроорганизмы этой группы были выявлены во всех исследованных видах образцов, при этом наибольшее количество штаммов было выявлено в смывах со стен душевых (12 штаммов, 27,3%), наименьшее – в пробах

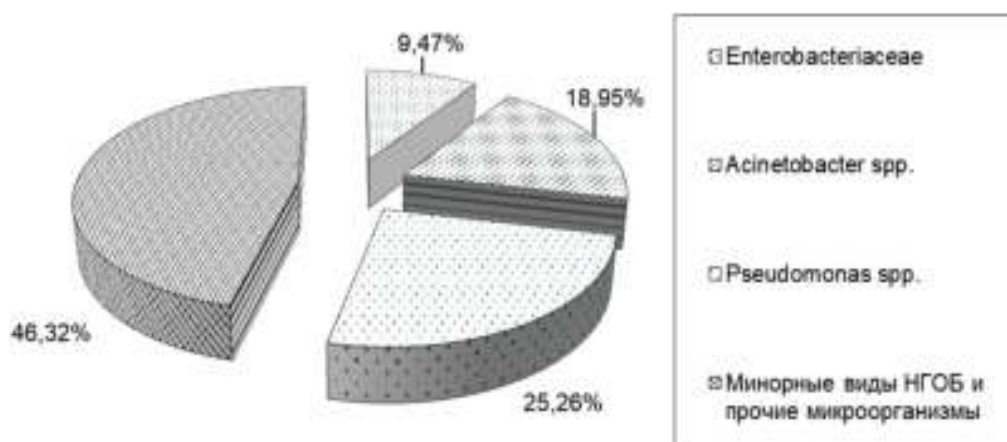


Рисунок 3 – Распределение по группам штаммов грамотрицательных бактерий (n=95), выявленных в плавательных бассейнах.

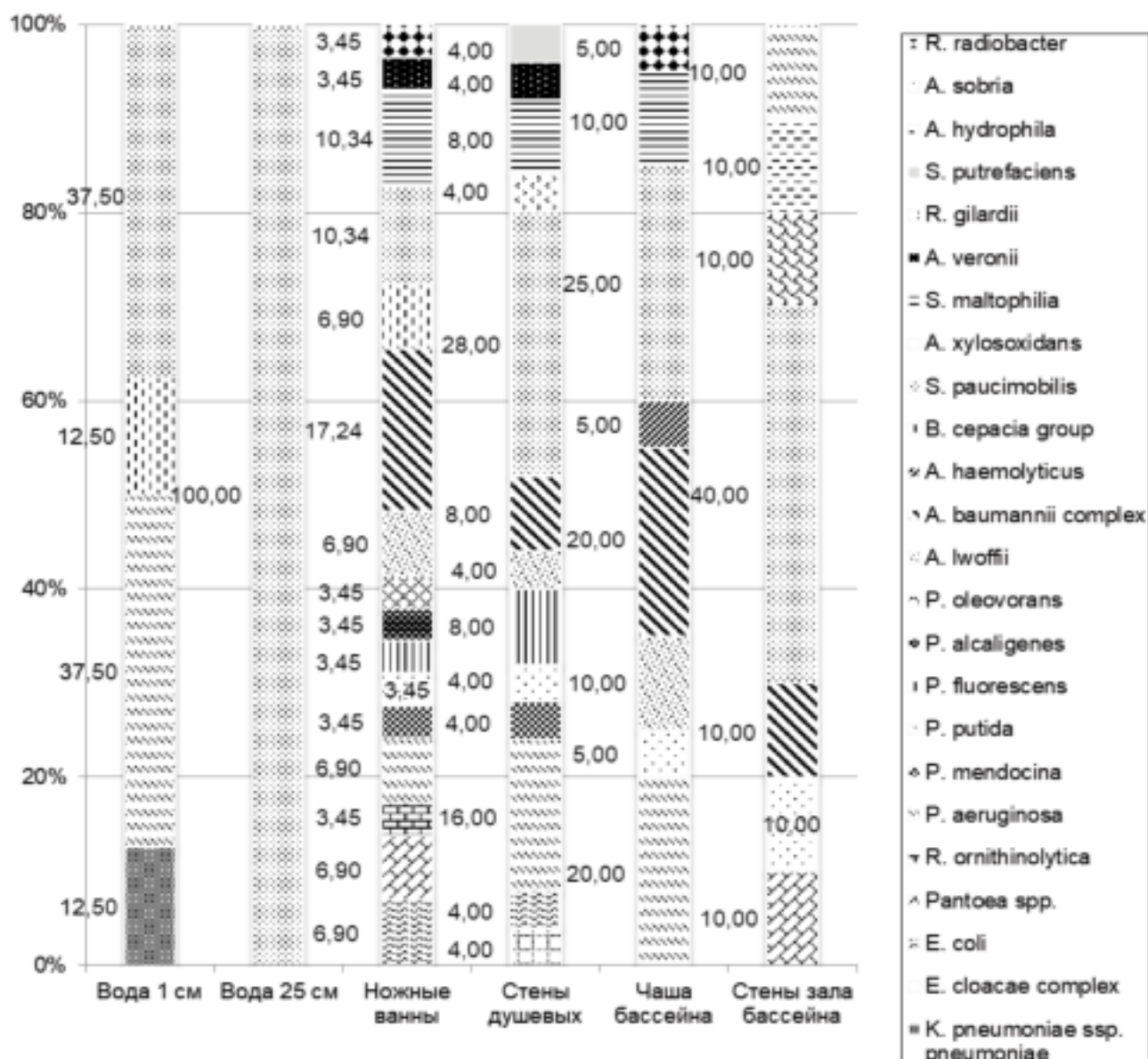


Рисунок 4 – Частота выявления грамотрицательных бактерий в исследованных образцах объектов внешней среды плавательных бассейнов.

воды, отобранных с глубины 25 см (3 штамма, 6,8%).

В результате анализа микро- и макроскопических признаков выявленных 19 штаммов грибов установлено, что 11 из них могут быть отнесены к роду *Aspergillus*, а 8 – к роду *Trichophyton*. Информация о количестве выявленных штаммов плесневых грибов и дерматофитов в исследованных образцах представлена в таблице 2.

Наибольшее количество штаммов грибов было выявлено в смывах со стен душевых (6 штаммов, 31,6%), наименьшее – в пробах воды, отобранных с глубины 1 см (1 штамм, 5,26%). В пробах воды, отобранных с глубины 25 см,

плесневых грибов и дерматофитов выявлено не было. Следует отметить, что штаммы дерматофитов выявлялись в примерно одинаковом количестве смывов разных видов и не обнаруживались в пробах воды, в то время как 45,5% штаммов плесневых грибов были выявлены в смывах со стен душевых.

Обсуждение

Большая часть проводимых в мире микробиологических исследований ПБ посвящена выявлению микроорганизмов в пробах воды, отобранных из чаши плавательного бассейна, либо

Таблица 2 – Видовая структура и контаминация объектов внешней среды плавательных бассейнов плесневыми грибами и дерматофитами

Вид микроорганизма	Количество штаммов микроорганизмов, выделенных из объектов внешней среды ПБ						
	Вода (1 см)	Вода (25 см)	Ножные ванны	Стены душевых	Стены зала бассейна	Чаша бассейна	Всего
<i>Aspergillus spp.</i>	1	-	1	5	2	2	11
<i>Trichophyton spp.</i>	-	-	2	1	2	3	8

в образцах, отобранных из системы подготовки воды, подаваемой в чашу бассейна (загрузка фильтров, фрагменты водопроводных труб и пр.). Перечень искомым микроорганизмов, как правило, ограничивается видами, поиск которых регламентирован нормативными документами. При этом исследователями отмечается, что многие ГПМ и ГОБ способны обуславливать возникновение и развитие инфекций у человека при условии их накопления в/на объектах внешней среды в достаточных количествах и при достаточной экспозиции [7-9].

В научной литературе, находящейся в свободном доступе, не было обнаружено исследований, посвящённых проведению видовой идентификации максимально широкого спектра УПМ, которые могут быть выявлены при санитарно-микробиологических исследованиях ПБ, причём не только в воде и/или системах водоподготовки, но и на поверхностях помещений и технологического оборудования ПБ.

В результате проведённого исследования был установлен видовой состав микробиоценозов ПБ, дана количественная характеристика контаминации различных объектов внешней среды ПБ микроорганизмами, что позволяет более полно охарактеризовать микробиоценозы ПБ. Показано, что в состав микробиоценозов ПБ могут входить представители 50 таксономических единиц микроорганизмов, при этом многие из них обладают патогенным потенциалом и имеют определённое клиническое значение, особенно для иммунокомпрометированных лиц. 44,6% штаммов ГПМ и 76,8% штаммов ГОБ были выявлены в количествах 10^3 КОЕ/мл и выше, что является предпосылкой для инфицирования посетителей ПБ и повышения вероятности развития инфекций, ассоциированных с посещением ПБ.

Полученные данные свидетельствуют о выраженной неравномерности колонизации объ-

ектов внешней среды ПБ микроорганизмами. Факт относительно редкого выявления ГПМ и представителей семейства Enterobacteriaceae в пробах воды ПБ согласуется с данными мировой научной литературы [10, 11]. В то же время было установлено, что ГПМ и ГОБ выявляются в смывах с поверхностей помещений и технологического оборудования (в первую очередь, в смывах со стен душевых и поверхностей ножных ванн) существенно чаще и в больших количествах, чем в пробах воды. Это обстоятельство свидетельствует в пользу необходимости проведения рутинного санитарно-микробиологического контроля смывов с этих объектов с целью получения объективной и более полной информации о вероятных рисках для здоровья посетителей ПБ, связанных с контактом с микроорганизмами-представителями микробиоценозов ПБ.

Выявление штаммов *E. faecalis* в пробах воды, отобранных с глубины 25 см, а также в смывах с поверхностей ножных ванн свидетельствует о вероятной фекальной контаминации объектов, из которых были отобраны образцы. С учётом большей устойчивости в окружающей среде, а также более высокой резистентности к дезинфицирующим средствам энтерококков по сравнению с бактериями группы кишечной палочки, определение этих микроорганизмов в объектах внешней среды, вероятно, будет более достоверно отражать санитарное состояние ПБ.

26,3% выявленных ГОБ относятся к виду *S. paucimobilis*, которые были выявлены во всех видах исследованных образцов, а 84% штаммов было выявлено в количествах 10^3 КОЕ/мл и более. *S. paucimobilis* способны обуславливать широкий спектр инфекций, в том числе при инфицировании во внебольничной среде, а количество случаев подтверждённой инфекции этим возбудителем увеличивается [12]. Персистирование этого микроорганизма в ПБ обуславливает дополнительные риски для здоровья посетителей

ПБ, в первую очередь, для иммунокомпрометированных лиц.

Заключение

Результаты проведённого исследования позволяют сформулировать следующие выводы:

1) микробиоценозы ПБ являются сложной биологической системой, существенная доля в структуре которой принадлежит клинически значимым микроорганизмам;

2) спектр микроорганизмов, выявляемых в ПБ, широк, представлен 50 таксономическими единицами, преимущественно представителями микробиоценозов кожи и слизистых оболочек человека, способными длительное время сохраняться на объектах внешней среды;

3) санитарно-микробиологические исследования воды ПБ, проведение которых регламентировано действующей нормативно-правовой документацией Республики Беларусь, не позволяют получить представление о видовом составе и количественных характеристиках представителей микробиоценозов ПБ, вследствие чего реальные риски для здоровья посетителей ПБ могут быть недооценены;

4) требуется проведение более глубоких исследований (в том числе с применением молекулярно-генетических методов), посвящённых оценке патогенного потенциала выявленных микроорганизмов для обеспечения биологической безопасности населения путём снижения вероятности возникновения и развития инфекционной патологии, ассоциированной с посещением ПБ.

Следует отметить, что результаты настоящего исследования имеют ограниченную область применения ввиду особенностей исследованной выборки ПБ и их экстраполяция в масштабах республики должна осуществляться с осторожностью. Однако эти результаты могут быть использованы в качестве ожидаемых при разработке дизайна и организации подобных исследований как в других регионах Республики Беларусь и/или странах ближнего и дальнего зарубежья, так и при исследовании более крупных выборок ПБ.

Литература

1. Recreational Water Illness [Electronic resource] / Centers for Disease Control and Prevention. – Mode of access: <https://www.cdc.gov/healthywater/swimming/swimmers/rwi.html>. – Date of access: 19.09.2019.
2. ГОСТ Р 51592-2000. Вода. Общие требования к отбору проб [Электронный ресурс]. – Введ. 2001–07–01. – Режим доступа: https://znaytovar.ru/gost/2/GOST_R_515922000_Voda_Obshhie.html. – Дата доступа: 19.09.2019.
3. СТБ ГОСТ Р 51593-2001. Вода питьевая. Отбор проб [Электронный ресурс]. – Введ. 2002–11–01. – Режим доступа: http://gost-snip.su/document/stb_gost_r_51593_2001_voda_pitevaya_otbor_prob. – Дата доступа: 19.09.2019.
4. Гигиенические требования к устройству, оборудованию и эксплуатации плавательных бассейнов [Электронный ресурс] : санитар. нормы, правила и гигиен. нормативы : постановление М-ва здравоохранения Респ. Беларусь, 22 сент. 2009 г., № 105. – Режим доступа: https://pda.sanatorii.by/?Gigienicheskie_trebovaniya_k_ustrojstvu_oborudovaniyu_i_ekspluatcii_plavatelnyh_bassejnov. – Дата доступа: 24.09.2019.
5. МУ 3.5.1.3439-17. Оценка чувствительности к дезинфицирующим средствам микроорганизмов, циркулирующих в медицинских организациях [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://62.rospotrebnadzor.ru/content/mu-3513439-17-ocenka-chuvstvitelnosti-k-dezinficiruyushchim-sredstvam-mikroorganizmov>. – Дата доступа: 19.09.2019.
6. Методы санитарно-микробиологического контроля воды плавательных бассейнов : инструкция по применению : утв. МЗ РБ 19 марта 2010 г., № 070-0210 / В. П. Филонов [и др.]. – Минск, 2010. – 25 с.
7. Granulicatella infection: diagnosis and management / J. S. Cargill [et al.] // J. Med. Microbiol. – 2012 Jun. – Vol. 61, pt. 6. – P. 755–761.
8. The expanding spectrum of human infections caused by Kocuria species: a case report and literature review / S. Purty [et al.] // Emerg. Microbes Infect. – 2013 Oct. – Vol. 2, N 10. – P. e71.
9. Peters, M. C. F. M. Microbiology in swimming pools: UV-based treatment versus chlorination : doctoral thesis / M. C. F. M. Peters ; Delft University of Technology. – [S. L.], 2016. – 165 p.
10. Ajadi, F. A. Microbial Assessment of Swimming Pools from Selected Hotels in Osogbo Metropolis, Osun State, Nigeria / F. Ajadi, O. A. Thonda // J. Advances Microbiol. – 2017 Dec. – Vol. 7, N 3.
11. Assessment of Microbial Contamination and Physicochemical Condition of Public Swimming Pools in Kashan, Iran / S. Rasti [et al.] // Jundishapur J. Microbiol. – 2012. – Vol. 5, N 3. – P. 450–455.
12. Sphingomonas paucimobilis infections in children: 24 case reports / N. Bayram [et al.] // Mediterr J. Hemato. Infect. Dis. – 2013 Jun. – Vol. 5, N 1. – P. e2013040.

Поступила 18.06.2019 г.

Принята в печать 27.09.2019 г.

References

- Centers for Disease Control and Prevention. Recreational Water Illness [Internet]. 2019 [cited 2019 Sep 19]. Available from: <https://www.cdc.gov/healthywater/swimming/swimmers/rwi.html>
- GOST R 51592-2000. Water. General sampling requirements [Elektronnyi resurs]. Vved 2001–07–01. Rezhim dostupa: https://znaytovar.ru/gost/2/GOST_R_515922000_Voda_Obshhie.html. Data dostupa: 19.09.2019. (In Russ.)
- STB GOST R 51593-2001. Drinking water. Sample selection [Elektronnyi resurs]. Vved 2002–11–01. Rezhim dostupa: http://gost-snip.su/document/stb_gost_r_51593_2001_voda_pitevaya_otbor_prob. Data dostupa: 19.09.2019. (In Russ.)
- Hygienic requirements for the design, equipment and operation of swimming pools [Elektronnyi resurs]: sanitarnyye pravila i gigenychnyye normativy: postanovleniye M-vn Zdravookhraneniya Respubliki Belarus', 22 sent 2009 g. № 105. Rezhim dostupa: https://pda.sanatorii.by/?Gigienicheskiye_trebovaniya_k_ustroystvu_oborudovaniyu_i_ekspluatacii_plavatelnykh_bassejnov. Data dostupa: 24.09.2019. (In Russ.)
- MU 3.5.1.3439-17. Assessment of sensitivity to disinfectants of microorganisms circulating in medical organizations [Elektronnyi resurs]. Rezhim dostupa: <http://62.rosпотреbnadzor.ru/content/mu-3513439-17-ocenka-chuvstvitelnosti-k-dezinficiruyushchim-sredstvami-mikroorganizmov>. Data dostupa: 19.09.2019. (In Russ.)
- Filonov VP, Zastenskaya IA, Mel'nikova LA, Dudchik NV, Treshkova TS, Tretyak VV, i dr. Methods of sanitary-microbiological control of swimming pool water: instruktsiya po primeneniyu: utv MZ RB 19 marta 2010 g, № 070-0210. Minsk, RB; 2010. 25 p. (In Russ.)
- Cargill JS, Scott KS, Gascoyne-Binzi D, Sandoe JA. Granulicatella infection: diagnosis and management. J Med Microbiol. 2012 Jun;61(Pt 6):755-61. doi: 10.1099/jmm.0.039693-0
- Purty S, Saranathan R, Prashanth K, Narayanan K, Asir J, Devi CS, et al. The expanding spectrum of human infections caused by Kocuria species: a case report and literature review. Emerg Microbes Infect. 2013 Oct;2(10):e71. doi: 10.1038/emi.2013.71
- Peters MCFM; Delft University of Technology. Microbiology in swimming pools: UV-based treatment versus chlorination: doctoral thesis. [SL]; 2016. 165 p. doi: 10.4233/uuid:6461fab4-564a-4b91-851f-d27c96434991
- Ajadi FA, Thonda OA. Microbial Assessment of Swimming Pools from Selected Hotels in Osogbo Metropolis, Osun State, Nigeria. J Advances Microbiol. 2017 Dec;7(3). doi: 10.9734/JAMB/2017/38397
- Rasti S, Assadi MA, Iranshahi L, Saffari M, Gilasi HR, Pourbabaee M. Assessment of Microbial Contamination and Physicochemical Condition of Public Swimming Pools in Kashan, Iran. Jundishapur J Microbiol. 2012;5(3):450-5. doi: 10.5812/jjm.2478
- Bayram N, Devrim I, Apa H, Gülfidan G, Türkyılmaz HN, Günay I. Sphingomonas paucimobilis infections in children: 24 case reports. Mediterr J Hematol Infect Dis. 2013 Jun;5(1):e2013040. doi: 10.4084/MJHID.2013.040

Submitted 18.06.2019

Accepted 27.09.2019

Сведения об авторах:

Пугач В.В. – научный сотрудник лаборатории клинической и экспериментальной микробиологии, Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8023-682X>.

Information about authors:

Pugach V.V. – research officer of the Laboratory for Clinical and Experimental Microbiology, Republican Research and Practical Center for Epidemiology & Microbiology, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8023-682X>.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 220114, г. Минск, ул. Филимонова, 23, Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, лаборатория клинической и экспериментальной микробиологии. E-mail: valeomed@mail.ru – Пугач Валентин Валентинович.

Correspondence address: Republic of Belarus, 220114, Minsk, 23 Filimonova str., Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Laboratory for Clinical and Experimental Microbiology E-mail: valeomed@mail.ru – Valentin V. Pugach.

КАЧЕСТВО ЖИЗНИ ПАЦИЕНТОВ С РАЗЛИЧНЫМИ ФОРМАМИ ИБС (ИНФАРКТ МИОКАРДА, СТАБИЛЬНАЯ СТЕНОКАРДИЯ НАПРЯЖЕНИЯ) ПОСЛЕ СТЕНТИРОВАНИЯ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ

ПРУДНИКОВ А.Р.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2019. – Том 18, №5. – С. 45-52.

LIFE QUALITY OF PATIENTS WITH VARIOUS FORMS OF CORONARY HEART DISEASE (MYOCARDIAL INFARCTION, EFFORT ANGINA PECTORIS) AFTER CORONARY ARTERY STENTING

PRUDNIKOV A.R.

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2019;18(5):45-52.

Резюме.

Цель работы – оценить изменение качества жизни пациентов с различными формами ИБС после стентирования коронарных артерий.

Материал и методы. Обследовано 52 пациента со стабильной стенокардией напряжения (II функциональный класс) и 23 пациента с инфарктом миокарда. Контрольную группу составили 26 практически здоровых лиц. Для оценки качества жизни исследуемых пациентов использовали опросник SF-36. Опрос проводился в период госпитализации пациентов и спустя 12 месяцев.

Результаты. У пациентов как с инфарктом миокарда, так и у пациентов со стабильной стенокардией напряжения все показатели качества жизни были значимо ниже по сравнению с контрольной группой за исключением параметра «социальное функционирование» и интегрального параметра «психологическое здоровье». Показатели «ролевая деятельность», «телесная боль», «социальное функционирование», «эмоциональное состояние», интегральные параметры «физическое здоровье» и «психологическое здоровье» статистически значимо увеличиваются у пациентов с инфарктом миокарда спустя 1 год после проведенного стентирования коронарных артерий. Показатели «ролевая деятельность», «телесная боль», «эмоциональное состояние», интегральные параметры «физическое здоровье» и «психологическое здоровье» статистически значимо увеличиваются у пациентов со стабильной стенокардией спустя 1 год после проведенного стентирования коронарных артерий.

Заключение. На фоне комплексного лечения (стентирование коронарных артерий с последующей медикаментозной терапией) пациентов с инфарктом миокарда и пациентов со стабильной стенокардией напряжения через 1 год физический и психологический интегральные компоненты качества жизни достоверно увеличиваются и практически достигают референтных значений.

Ключевые слова: качество жизни, ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда, стабильная стенокардия напряжения, опросник SF-36, стентирование.

Abstract.

Objectives. To assess the change in life quality of patients with various forms of coronary heart disease after coronary artery stenting.

Material and methods. 52 patients with effort angina pectoris of functional class II and 23 patients with myocardial infarction were examined. The control group consisted of 26 practically healthy individuals. The SF-36 questionnaire was used for assessing the life quality of the studied patients. The survey was conducted during their hospitalization and 12 months thereafter.

Results. All indicators of the life quality both in patients with myocardial infarction and in patients with effort angina pectoris were significantly lower compared to those in the control group except for the parameter «social functioning» and the integral parameter «psychological health». The indicators «role activity», «bodily pain», «social functioning», «emotional state», integral parameters «physical health» and «psychological health» significantly increased in patients with myocardial infarction in 1 year after coronary artery stenting. The indicators «role activity», «bodily pain», «emotional state», integral parameters «physical health» and «psychological health» significantly increased in patients with effort angina pectoris in 1 year after coronary artery stenting.

Conclusions. Against the background of complex treatment (coronary artery stenting followed by drug therapy) of patients with myocardial infarction and patients with effort angina pectoris 1 year later, the physical and psychological integral components of the life quality significantly increase and almost reach the reference values.

Key words: quality of life, coronary heart disease, myocardial infarction, effort angina pectoris, SF-36 questionnaire, stenting.

Всемирная организация здравоохранения определяет качество жизни (КЖ) как индивидуальное восприятие человеком своей позиции в жизни в контексте культурной среды и системы ценностей, в которой проживает индивид, и в соответствии с его целями, ожиданиями, стандартами и воззрениями [Study protocol for the World Health Organization project to develop a Quality of Life assessment instrument, 1].

КЖ является комплексной характеристикой физического, психологического, эмоционального и социального функционирования человека, основанной на его субъективном восприятии, поэтому в медицинском понимании этот термин всегда связан со здоровьем. В понятии КЖ выделяют объективную и субъективную стороны, где первая сторона отражает соматическое и психологическое состояние пациента, особенности его поведенческой активности, материальное и социальное положение, трудовой и семейный статус, а вторая сторона – характеризует степень удовлетворенности различными сторонами бытия и жизнедеятельности в связи с заболеванием [2].

Взросший интерес к изучению данного вопроса связан с тем, что показатели КЖ не только емко отражают состояние здоровья популяции, но и в перспективе помогут создать целостную картину в оценке эффектов и эффективности лечения при различных заболеваниях, в том числе и пациентов кардиологического профиля [3].

Изучение показателей КЖ также позволило в какой-то мере вернуться к важнейшему принципу клинической практики «лечить не болезнь, а пациента». Поэтому КЖ пациента в определенных ситуациях становится либо основополагающей целью лечения заболеваний, не ограничивающих продолжительность жизни, либо дополнительной целью лечения пациентов при заболеваниях, ограничивающих продолжитель-

ность жизни, либо единственной целью при инкурабельной стадии заболеваний [4]. Многие исследователи критиковали оценку КЖ пациентов с ИБС как необъективную, однако использование различных специальных опросников показало их достоверность при сопоставлении с результатами нагрузочных проб, применяемых для постановки или корректировки диагноза пациентов с ИБС [3].

Таким образом, на сегодняшний день изучение КЖ пациентов с ИБС весьма актуально в связи с тем, что характеристики данного параметра отражают в равной степени как ущерб здоровью человека, причиняемый заболеванием, так и являются показателем качества и объема оказываемой помощи [3].

Цель работы – оценить изменение качества жизни пациентов с различными формами ИБС после стентирования коронарных артерий.

Материал и методы

Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ВГМУ (протокол №1 от 15.02.2017 г.). Все пациенты, включенные в исследование, заполнили и подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Было проведено исследование пациентов мужского пола с верифицированным, после проведения коронарографии (с подсчетом баллов по шкале Syntax score I) и/или тредмил-теста диагнозами:

- ИБС: стабильная стенокардия напряжения (ССН), II функциональный класс (n=52);
- ИБС: инфаркт миокарда (ИМ) различной локализации (n=23).

Всем пациентам проводилось стентирование коронарных артерий по медицинским пока-

занятиям. Контрольную группу (КГ) составили 26 практически здоровых мужчин.

Клиническое обследование проводилось на базе кардиологического отделения УЗ «Витебская областная клиническая больница» и клиники ВГМУ. Клиническая характеристика представлена в таблице 1.

Для оценки КЖ исследуемых пациентов использовали опросник SF-36. Он содержит 36 пунктов, которые сгруппированы в 8 шкал: физическое функционирование (Physical Functioning – PF), ролевая деятельность (Role – Physical Functioning – RP), телесная боль (Bodily pain – BP), общее здоровье (General Health – GH), жизнеспособность (Vitality – VT), социальное функционирование (Social Functioning – SF), эмоциональное состояние (Role – Emotional – RE) и психическое здоровье (Mental Health – MH). Показатели каждой шкалы варьируют от 0 до 100 баллов, при этом 100 баллов характеризуют максимальную удовлетворённость определенным компонентом КЖ. В результате использования данных шкал рассчитываются следующие интегральные показатели: физический (РН)

и психологический (МН) компоненты здоровья [3]. Опрос пациентов с ССН проводился в 1-е сутки их госпитализации, пациентов с ИМ – в конце острого периода коронарного события (6-7 сутки). Через год после выписки из стационара проводился телефонный опрос пациентов с использованием опросника SF-36. Для оценки приверженности пациентов к медикаментозной терапии через год после интервенционного вмешательства применялся тест Мориски-Грина (4 вопроса по 1 баллу каждый) [5]. Приверженными к лечению, согласно тесту, считаются пациенты, набирающие 3 балла и более.

Не включались в исследование пациенты моложе 30 и старше 70 лет, а также пациенты, имеющие следующие патологии: верифицированные онкологические, гематологические заболевания, острые и прогрессирующие заболевания печени и почек, хроническую венозную недостаточность с тромбозами и тромбофлебитами, заболевания щитовидной железы с клиническими проявлениями, системные заболевания соединительной ткани, сердечную недостаточность 2-4

Таблица 1 – Клиническая характеристика изучаемых групп

Группа / параметр	Группа пациентов с ИМ, n=23	Группа пациентов с ССН 2 ФК, n=52	Группа сравнения, n=26	Р
Возраст, лет Me;LQ-UQ	57; 50,5-61,5	57; 52-64	47; 39-53	$p^{1-2}>0,05$ $p^{1-3}=0,056$ $p^{2-3}=0,059$
ИМТ кг/м ² Me;LQ-UQ	25,26; 24,69-27,21	25,61; 24,48-28,37	24,97; 23,66-25,51	$p^{1-2}>0,05$ $p^{1-3}=0,073$ $p^{2-3}=0,07$
Курение, n (%)	4 (17,4)	6 (11,5)	0 (0)	$p^{1-2}>0,05$ $p^{1-3}<0,001$ $p^{2-3}<0,001$
Артериальная гипертензия, n (%)	10 (43,4)	20 (38,4)	0 (0)	$p^{1-2}>0,05$ $p^{1-3}<0,001$ $p^{2-3}<0,001$
Общий холестерин, ммоль/л, Me;LQ-UQ	4,47; 3,7-5,3	4,7; 3,9-5,5	4,36; 3,7-4,9	$p^{1-2}, 1-3, 2-3}>0,05$
Syntax score I, баллы Me;LQ-UQ	8,5; 4-10	11; 0-12	0 (0)	$p^{1-2}>0,05$
Поражение правой коронарной артерии, n (%)	17 (73,9)	28 (53,8)	0 (0)	$p^{1-2}>0,05$
Поражение передней межжелудочковой артерии, n (%)	13 (56,5)	30 (57,6)	0 (0)	$p^{1-2}>0,05$
Поражение огибающей артерии, n (%)	12 (52,1)	30 (57,6)	0 (0)	$p^{1-2}>0,05$
Количество пораженных коронарных артерий Me; Lq-Uq	1,33; 0-2	1,17; 0-2	0	$p^{1-2}>0,05$

ФК, тяжелые нарушения ритма (AV-блокада 2-3 степени, синоатриальная блокада 2-3 степени).

Результаты

Показатели КЖ в изучаемых группах представлены на рисунке 1.

Сравнение показателей КЖ при разделении пациентов с ССН на подгруппы с/без постинфарктного кардиосклероза (ПИКС) не выявило статистически достоверных различий ($p > 0,05$).

Данные рисунка 1 свидетельствуют о наличии значимых различий между изучаемыми группами пациентов и КГ по всем параметрам КЖ, за исключением показателей SF и MHI.

Показатели, отражающие физическое здоровье, были значимо ниже у пациентов с различными формами ИБС, по сравнению с КГ. В частности, значение показателя RP, определяющего влияние физического состояния на возможность выполнения повседневной ролевой деятельности (работа, выполнение повседневных обязанностей) и значение показателя BP, отражающего возможность заниматься повседневной деятельностью (включая работы по дому и вне дома), были наименьшими по сравнению с другими исследуемыми показателями, характеризующими физический компонент здоровья. Полученный результат является вполне закономерным, т.к. наличие ИБС предполагает, что определенная физическая нагрузка, при данной патологии, приводит к развитию болевых ощущений за грудиной, что затрудняет полноценное выполнение как своих профессиональных обязанностей на работе, так и работы по дому. При этом значение показателя RP значительно сниже-

но (на 50 пунктов) в группе пациентов с ССН, что, вероятно, можно объяснить длительным воздействием хронической ишемии на повседневную деятельность пациентов в данной группе, нежели в группе пациентов с ИМ, где период ишемических проявлений был непродолжительный (3 года в группе ССН против 6 месяцев в группе ИМ, при опросе учитывались субъективные данные начала симптомов ишемии по мнению самих пациентов). При этом, для получения объективных результатов ни факт пребывания в стационаре, ни наличие острого коронарного события при проведении опроса не учитывались.

Значение показателя PF, отражающего степень влияния физического состояния на возможность выполнения физических нагрузок (самообслуживание, ходьба, подъем по лестнице, переноска тяжестей и др.) было значимо ниже у пациентов с ИБС (80 (60-96) – в группе ИМ, 75 (60-85) – в группе ССН, $p < 0,001$). Однако оно было выше, чем значения показателей RP и BP (75 (0-100) и 63 (46,5-84) – в группе ИМ; 62 (41-74) и 25 (0-50) – в группе ССН соответственно, $p < 0,001$). При этом значение показателя PF в группе пациентов с ССН было ниже, чем в группе пациентов с ИМ. Значение показателя GH, отражающего оценку пациентом состояния здоровья в настоящий момент, у пациентов с ИБС (53,5 (45-67) – в группе ИМ, 50 (45-65) – в группе ССН) значимо отличалось от значений в КГ ($p = 0,03$).

Из показателей, отражающих психологическое здоровье, наименьшими по сравнению с КГ были показатели: VT (55 (52,5-67) – группа ИМ, $p = 0,03$, 55 (45-65) – группа ССН, $p < 0,001$), отражающий степень утомляемости пациента и RE (85

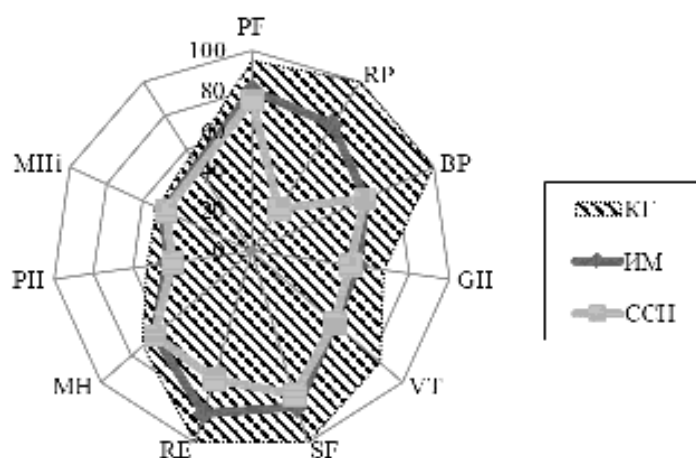


Рисунок 1 – Показатели качества жизни пациентов с различными формами ИБС в период госпитализации в стационаре.

(21,65-100) – группа ИМ, $p=0,047$, 66,7 (33,33-100) – группа ССН, $p=0,03$), оценивающий степень влияния эмоционального состояния на возможность выполнения работы или другой повседневной деятельности. Оба эти показателя были ниже у пациентов с ССН, чем в группе пациентов с ИМ. Такие показатели, как SF (81,25 (56,25-100) – группа ИМ, $p=0,276$, 75 (62,5-100) – группа ССН, $p=0,087$), характеризующий уровень социального общения, и МН (64 (58-72) – группа ИМ, $p=0,231$, 64 (52-76) – группа ССН, $p=0,056$), общий показатель положительных эмоций, отражающий настроение пациента, наличие у него депрессии, тревоги, статистически значимо не различались между собой в изучаемых группах. Интегральный показатель (МН_i), позволяющий оценить психологический компонент здоровья (48,19 (41,97-59,13) – в группе ИМ, 47,15 (40,22-52,98) – в группе ССН), статистически значимо не различался между всеми исследуемыми группами ($p>0,05$).

Таким образом, при наличии ИБС значимо изменяются все параметры КЖ, что проявляется в снижении всех показателей физического компонента КЖ и его интегрального параметра, а также в снижении некоторых показателей психологического компонента КЖ.

Через год после выписки из стационара путем телефонного опроса было повторно определено КЖ с использованием опросника SF-36. Результаты представлены в таблице 2.

Данные таблицы 2 свидетельствуют об увеличении в той или иной степени (в среднем на 12-20%) всех показателей КЖ в обеих изучаемых группах, при этом выделяется среди прочих показатель RP, возросший более чем в 2,33 раза в группе пациентов с ССН. Стоит отметить, что по-

казатели КЖ в контрольной группе статистически значимо не изменились за 12 месяцев, что позволяет корректно сравнивать данные опытных групп спустя 1 год после проведенного интервенционного вмешательства с данными КГ.

Большинство исследуемых показателей достоверно увеличились через год и практически достигли значений контрольной группы (примерно 80-99% от значений в КГ), за исключением показателя BP, что можно объяснить постепенной адаптацией к повседневной физической активности (рис. 2). Стоит отметить, что показатели GH, VT, SF, RE в группе пациентов с ИМ оказались ближе к референтным значениям, чем аналогичные показатели в группе пациентов с ССН.

Приверженность пациентов к медикаментозной терапии в течение года после проведенного стентирования представлена в таблице 3.

По данным таблицы мы можем наблюдать, в целом, относительно высокую (более 78%) приверженность к терапии после интервенционного вмешательства.

Таким образом, стентирование коронарных артерий (по жизненным показаниям у пациентов с ИМ и исходя из тяжести коронарного атеросклероза у пациентов с ССН), наряду с последующей медикаментозной терапией, оказало положительный эффект на КЖ, показатели которого приблизились к т.н. «полному здоровью» пациентов с изучаемыми патологиями.

Обсуждение

Для количественной оценки КЖ используются общие и специфические опросники, разработанные экспертами ведущих мировых кли-

Таблица 2 – Изменения показателей КЖ спустя год после стентирования

Показатели качества жизни	Группа ИМ		Группа ССН		Контрольная группа	
	Темп изменения показателя спустя 1 год, %	p	Темп изменения показателя спустя 1 год, %	p	Темп изменения показателя спустя 1 год, %	P
PF	12,5	0,08	13,3	0,07	2,3	0,12
RP	13,3	0,009	233,2	0,001	-0,9	0,23
BP	26,9	0,04	19,35	0,018	1,6	0,19
GH	15,8	0,22	24	0,21	3,5	0,21
VT	36,4	0,04	18,2	0,07	5,4	0,13
SF	16,9	0,004	5,1	0,73	-2,8	0,44
RE	17,6	0,028	33,28	0,011	1,2	0,65
MN	12,5	0,024	18,75	0,011	2,1	0,11
PH	18,63	0,005	31,39	0,001	3,4	0,18
MN _i	7,4	0,04	10,37	0,04	2,7	0,24

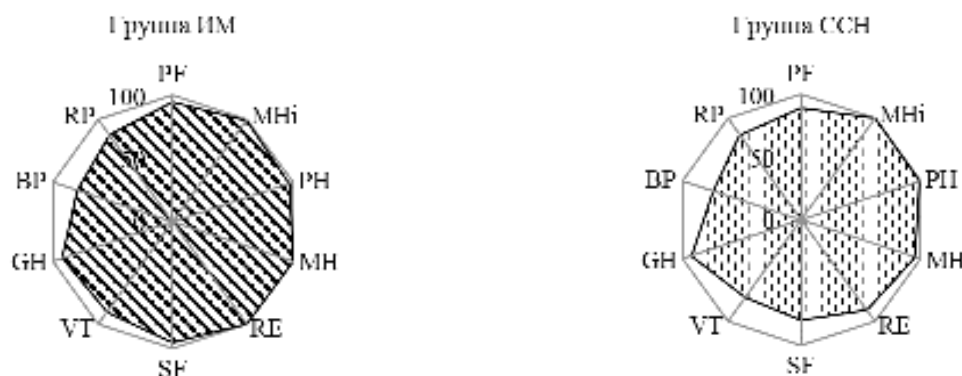


Рисунок 2 - Процент исследуемых показателей КЖ от значений показателей в КГ.

Таблица 3 – Приверженность пациентов к медикаментозной терапии согласно тесту Морински-Грина

Приверженность к терапии	Группа ИМ (n=23)	Группа ССН (n=52)
Высокая (3 балла и более)	19 (82,2%)	41 (78,8%)
Низкая (менее 3 баллов)	4 (17,8%)	11 (22,2%)

нических центров в соответствии с принципами доказательной медицины. По результатам заполнения пациентами данных опросников врач имеет представление не только о том, как протекает заболевание, но и о факторах, характеризующих жизнь пациента в быту. Каждый опросник составляется на основе следующих требований: он должен быть максимально простым и достаточно кратким, применимым в различных языковых и социальных культурах, обладать такими свойствами, как надежность, валидность и чувствительность [3].

Общие опросники применяются для оценки КЖ пациентов, страдающих теми или иными заболеваниями, однако золотым стандартом, в частности для пациентов с ИБС, является Short Form Medical Outcomes Study (SF-36) [4, 6]. Он отвечает всем критериям, предъявляемым к опросникам. Его преимуществом является широкая распространенность, простота проведения анкетирования и высокая валидность. SF-36 предназначен для изучения всех компонентов КЖ, в том числе связанных со здоровьем, и не является специфичным для возрастных групп, определенных заболеваний или схем лечения [4]. По данным MedLine за 2006 г., SF-36 используется в 95% научных исследований по изучению КЖ при различных заболеваниях [4]. Русская версия SF-36 валидирована Межнациональным центром исследования КЖ г. Санкт-Петербурга, где подтвердилась её высокая надежность и чувствительность при получении популяционных данных показателей КЖ жителей г. Санкт-Петербурга [4].

Помимо статистических характеристик, данный опросник решает и некоторые другие задачи. Во-первых, он отражает и тяжесть патологии, и отношение пациентов к своему заболеванию. В проведенном исследовании наиболее низкими показателями были RP и BP в сравнении с данными КГ, что согласуется с результатами И.Е. Сагатова [7]. Однако не все параметры опросника были статистически значимо ниже по сравнению с КГ. В частности, это относится к показателю SF, то есть значимое влияние на социальную активность пациентов наличие ИБС не оказывает, что согласуется с данными И.Д. Беспаловой и соавт., где показатель SF был единственным показателем, не отличающимся ($p > 0,05$) от группы контроля [8]. При этом наиболее значительно были снижены показатели, отражающие физический компонент здоровья, что также согласуется с нашими данными. Полученные результаты при сравнении с соответствующим возрастом (45-65 лет), полом (мужским) и заболеванием (ССН, ИМ) сопоставимы по всем показателям КЖ с результатами А. Huber et al., где проводилась оценка КЖ пациентов с ССН, ИМ и хронической сердечной недостаточностью в 16 странах Европы и Северной Америки [9]. В частности, все показатели КЖ в изучаемых группах, в целом, были значимо ниже, чем в КГ, но при сравнении опытных групп оказалось, что все параметры были незначительно выше у пациентов с ИМ, чем у пациентов со ССН. Интегральный показатель физического здоровья был значимо ниже, чем интегральный показатель психологического

здоровья у всех пациентов с ИБС, но оба интегральных показателя оказались выше у пациентов с ИМ, чем у пациентов со ССН. Полученные результаты авторы объясняют зависимостью между продолжительностью действия ишемии и показателями КЖ, что согласуется с нашими данными, где у пациентов с ССН продолжительность ишемических изменений была дольше [9].

По литературным данным, реваскуляризация миокарда улучшает КЖ как по физическому, так и психологическому компонентам здоровья, при этом максимальный эффект наблюдается спустя 6-12 месяцев после вмешательства [10], что согласуется с полученными результатами. С другой стороны, с течением времени положительный эффект от стентирования может уменьшаться. Так, по данным E. Pinheiro de Melo и соавт. [10], показатели КЖ пациентов с ИБС через 6 месяцев после хирургического лечения были достоверно выше по всем компонентам, чем через 2 года, причем только 33% пациентов возобновили свою профессиональную деятельность и адаптировались к более здоровому образу жизни.

Во-вторых, при всей своей субъективности результаты опросника не зависят от мнения лечащего врача и иных медицинских работников, а также от родственников пациента. Соответственно, используя опросник SF-36, мы получаем максимально «объективные» данные о том, как пациент справляется со своим заболеванием.

В-третьих, формулируемые выводы на основе полученных результатов должны не только базироваться на значениях интегральных компонентов КЖ, но и учитывать значения каждого показателя, входящего в их состав. В частности, полученные результаты указывают на достоверное увеличение интегральных компонентов КЖ через год после стентирования в обеих изученных группах, однако не все показатели, входящие в эти интегральные компоненты, повышаются. Например, в группе пациентов с ИМ через год после проведенного стентирования максимально увеличился показатель VT, свидетельствующий о снижении утомляемости при физической нагрузке. С другой стороны, показатель «общее здоровье» (GH) имеет лишь тенденцию к достижению аналогичного значения в КГ, что, предположительно, связано с непродолжительностью наблюдения и малой мощностью набранной группы. В группе пациентов с ССН максимально увеличился показатель «ролевая деятельность» (RE), что отражает эмоциональное состояние пациента

и позволяет ему вернуться к полноценному выполнению определенных физических нагрузок (показатель RE возрос на 33%). С другой стороны, показатель «социальное функционирование» (SF) практически не увеличился ($p>0,05$), что может свидетельствовать о неполной социальной адаптации на фоне наличия заболевания.

По данным В.В. Шумилина, наличие ПИКС не оказывает влияние на параметры КЖ у пациентов со ССН 2-3 ФК [11], что согласуется с полученными результатами (у пациентов с ССН с/без наличия ПИКС не отмечалось достоверных различий при сравнении всех показателей КЖ).

В-четвертых, показатели КЖ отражают результаты лечения в стационаре и на амбулаторном этапе, что подтверждается полученными результатами.

Заключение

1. У пациентов как с инфарктом миокарда, так и у пациентов со стабильной стенокардией напряжения все показатели качества жизни были значимо ниже по сравнению с контрольной группой, за исключением параметра «социальное функционирование» и интегрального параметра «психологическое здоровье».

2. Показатели «ролевая деятельность», «телесная боль», «социальное функционирование», «эмоциональное состояние», интегральные параметры физическое и психологическое статистически значимо увеличиваются у пациентов с инфарктом миокарда спустя 1 год после проведенного стентирования коронарных артерий. Показатели «ролевая деятельность», «телесная боль», «эмоциональное состояние», интегральные параметры «физическое здоровье» и «психологическое здоровье» статистически значимо увеличиваются у пациентов со стабильной стенокардией спустя 1 год после проведенного стентирования коронарных артерий.

Литература

1. Новик, А. А. Руководство по исследованию качества жизни в медицине / А. А. Новик, Т. И. Ионова ; под ред. Ю. Л. Шевченко. – 2-е изд. – М. : ОЛМА Медиа Групп, 2007. – 320 с.
2. Кувшинова, Н. Ю. Оценка качества жизни больных ишемической болезнью сердца во взаимосвязи с эмоционально-личностными характеристиками / Н. Ю. Кувшинова // Изв. Самар. науч. центра Рос. акад. наук. – 2010. – Т. 12, № 3-2. – С. 397–401.
3. Кашкина, Н. В. Изучение показателей качества жизни у больных ИБС с использованием опросника SF-36

- [Электронный ресурс] / Н. В. Кашкина, Н. С. Боталов, Ю. Э. Некрасова // Междунар. студенч. вестн. – 2018. – № 5. – Режим доступа: <http://eduherald.ru/ru/article/view?id=18667>. – Дата доступа: 07.10.2019.
4. Евсина, О. В. Качество жизни в медицине – важный показатель состояния здоровья пациента (обзор литературы) / О. В. Евсина // Личность в меняющемся мире: здоровье, адаптация, развитие. – 2013. – № 1. – С. 119–133.
 5. Козловский, В. И. Приверженность к терапии у пациентов с артериальной гипертензией II степени. Обзор литературы и собственные данные / В. И. Козловский, А. В. Симанович // Вестн. ВГМУ. – 2014. – Т. 13, № 2. – С. 6–16.
 6. Нагибина, Ю. В. Медико-социальные особенности больных ишемической болезнью сердца и качество жизни / Ю. В. Нагибина, Л. А. Захарова // Рос. кардиол. журн. – 2017. – № 3. – С. 155–159.
 7. Сагатов, И. Е. Качество жизни пациентов с ишемической болезнью сердца: результаты опросника SF-36 / И. Е. Са-

- гатов // Вестн. КазНМУ. – 2014. – № 4. – С. 432–433.
8. Качество жизни больных гипертонической болезнью с метаболическим синдромом / И. Д. Беспалова [и др.] // Артериал. гипертензия. – 2012. – Т. 18, № 4. – С. 304–309.
9. Huber, A. International SF-36 reference values in patients with ischemic heart disease / A. Huber, N. Oldridge, S. Hofer // Qual Life Res. – 2016 Nov. – Vol. 25, N 11. – P. 2787–2798.
10. Погосова, Н. В. Качество жизни больных тремя формами ишемической болезни сердца: состояние проблемы, методы оценки, взаимосвязь с психологическим статусом и прогностическое значение / Н. В. Погосова, Ю. М. Юферева, О. Ю. Соколова // Профилактик. медицина. – 2015. – Т. 18, № 6. – С. 97–104.
11. Шумилин, В. В. Оценка качества жизни больных стенокардией [Электронный ресурс] / В. В. Шумилин // Математ. морфология : электрон. математ. и мед.-биол. журн. – 2006. – Т. 5, № 4. – Режим доступа: <http://sgma.alpha-design.ru/MMORPH/N-12-html/shumilin.htm>. – Дата доступа: 07.10.2019.

Поступила 29.05.2019 г.

Принята в печать 27.09.2019 г.

References

1. Novik AA, Ionova TI; Shevchenko YuL, red. Guidelines for quality of life research in medicine. 2-e izd. Moscow, RF: OLMA Media Grupp; 2007. 320 p. (In Russ.)
2. Kuvshinova NYu. Assessment of the quality of life of patients with coronary heart disease in conjunction with emotional and personal characteristics. Izv Samar Nauch Tsentra Ros Akad Nauk. 2010;12(3-2):397-401. (In Russ.)
3. Kashkina NV, Botalov NS, Nekrasova YuE. The study of quality of life indicators in patients with coronary artery disease using the SF-36 questionnaire [Elektronnyi resurs]. Mezhdunar Studench Vestn. 2018;(5). Rezhim dostupa: <http://eduherald.ru/ru/article/view?id=18667>. Data dostupa: 07.10.2019. (In Russ.)
4. Evsina OV. Quality of life in medicine is an important indicator of a patient's health status (literature review). Lichnost' Meniaiushchemsia Mire Zdorov'e Adaptatsiia Razvitie. 2013;(1):119-33. (In Russ.)
5. Kozlovskiy VI, Simanovich AV. Adherence to therapy in patients with grade II arterial hypertension. Literature review and proprietary data. Vestn VGMU. 2014;13(2):6-16. (In Russ.)
6. Nagibina YuV, Zakharova LA. Medical and social

- characteristics of patients with coronary heart disease and quality of life. Ros Kardiolog Zhurn. 2017;(3):155-9. (In Russ.)
7. Sagatov IE. Quality of Life for Patients with Coronary Heart Disease: Results from the SF-36 Questionnaire. Vestn KazNMU. 2014;(4):432-3. (In Russ.)
8. Bepalova ID, Medyantsev YuA, Kalyuzhin VV, Murashev BYu, Osikhov IA. Quality of life of patients with hypertension with metabolic syndrome. Arterial Gipertenziia. 2012;18(4):304-9. (In Russ.)
9. Huber A, Oldridge N, Hofer S. International SF-36 reference values in patients with ischemic heart disease. Qual Life Res. 2016 Nov;25(11):2787-2798. doi: 10.1007/s11136-016-1316-4
10. Pogosova NV, Yufereva YuM, Sokolova OYu. The quality of life of patients with three forms of coronary heart disease: state of the problem, assessment methods, relationship with psychological status and prognostic value. Profilakt Meditsina. 2015;18(6):97-104. (In Russ.)
11. Shumilin VV. Assessment of the quality of life of patients with angina pectoris [Elektronnyi resurs]. Matemat Morfologiya Elektron Matemat Med-biol Zhurn. 2006;5(4). Rezhim dostupa: <http://sgma.alpha-design.ru/MMORPH/N-12-html/shumilin.html>. Data dostupa: 07.10.2019. (In Russ.)

Submitted 29.05.2019

Accepted 27.09.2019

Сведения об авторах:

Прудников А.Р. – м.м.н., аспирант кафедры внутренних болезней, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

Information about authors:

Prudnikov A.R. – Master of Medical Sciences, postgraduate of the Chair of Internal Medicine, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра внутренних болезней. E-mail: prudnikov92@yandex.ru – Прудников Александр Русланович.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Internal Medicine. E-mail: prudnikov92@yandex.ru – Alexander R. Prudnikov.

ВЛИЯНИЕ *TRICHINELLA SPIRALIS* НА СТРУКТУРУ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ТКАНЕЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГЛИОМЫ И НЕКОТОРЫХ ОРГАНОВ КРЫС

ПОБЯРЖИН В.В.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск,
Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2019. – Том 18, №5. – С. 53-58.

THE INFLUENCE OF *TRICHINELLA SPIRALIS* ON THE STRUCTURE AND IMMUNOHISTOCHEMICAL PARAMETERS OF EXPERIMENTAL GLIOMA TISSUES AND SOME ORGANS OF RATS

PABIARZHYN V.V.

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2019;18(5):53-58.

Резюме.

Цель – установить влияние инвазии *Trichinella spiralis* в дозе заражения 10 личинок на 1 г массы тела животного на иммуногистохимические показатели в тканях экспериментальной глиомы крыс в различные сроки наблюдения.

В эксперименте использовали самок крыс линии Wistar. У животных первой серии эксперимента (1-4 группы) воспроизводили экспериментальную модель развития крысиной глиомы C6 in situ. Крыс второй серии эксперимента (5-8 группы) с моделированной крысиной глиомой заражали *T. spiralis* в дозе 10 личинок на 1 г массы тела животного. У животных всех групп на 14-е, 21-е, 28-е, 35-е сутки развития опухоли в опухолевом материале проводили макроскопическое, гистологическое и иммуногистохимическое исследования (определялась экспрессия GFAP – glial fibrillary acidic protein, S 100, вычислялся индекс пролиферативной активности Ki-67).

Установлено, что инвазия *T. spiralis* в дозе 10 личинок на 1 г массы тела животного повышает экспрессию GFAP в биоптатах опухолевой ткани крысиной глиомы C6 in situ к 21-м и 28-м суткам после заражения в 3,08 и 3,8 раза соответственно; экспрессию S 100 к 7-м суткам развития инвазии в 3 раза, к 14-м – в 2,64 раза, к 21-м суткам после заражения – в 3,07 раза, к 28-м суткам – в 4,9 раза; индекс пролиферативной активности Ki 67 к 7-м суткам развития инвазии в 2,02 раза, к 14-м – в 1,69 раза, к 21-м суткам после заражения – в 3 раза, а к 28-м суткам – в 4,3 раза.

Обнаружены метастатические очаги глиомы в легких крыс на 28 сутки развития трихинелл. В образцах ткани легких экспрессия GFAP к 28-м суткам оценивалась в 1+ (11%; 95% ДИ : 110,21-139,88; IRS=4). Экспрессия S 100 в этих же образцах находилась на уровне 1+ (15%; 95 % ДИ : 123,27-132,12; IRS=4), а пролиферативная активность опухоли (Ki-67) составляла 40% (95 % ДИ : 299,44-455,68).

Экспрессия белков S 100, GFAP, индекс пролиферативной активности Ki-67 у зараженных *T. spiralis* животных были значительно выше, чем в группах с «чистой» глиомой практически во все сроки наблюдения. На 28-е сутки после заражения (35-е сутки роста глиомы) в легких были обнаружены метастатические очаги глиомы.

Ключевые слова: крыса, глиома, иммуногистохимические показатели, GFAP, S 100, Ki-67, *Trichinella spiralis*.

Abstract.

Objectives. To determine the influence of *Trichinella spiralis* invasion in the dose of 10 larvae per 1 g of animal body weight on immunohistochemical parameters in the tissues of experimental glioma of rats in different periods of observation.

Material and methods. Female rats of the Wistar line were used in the experiment. In animals of the first series of the experiment (groups 1-4) the experimental model of C6 rat glioma development in situ was simulated. Rats of the second

series of the experiment (groups 5-8) with modelled rat glioma were infected with *T. spiralis* in the dose of 10 larvae per 1 g of animal body weight. In animals of all groups on the 14th, 21st, 28th, 35th days of tumor development in tumor material macroscopic, histological and immunohistochemical studies were performed (glial fibrillar acid protein (GFAP), S 100 expression were determined, Ki-67 proliferative activity index was calculated).

Results. It has been found that the invasion of *T. spiralis* in the dose of 10 larvae per 1 g of animal body weight 3.08 and 3.8 times respectively increases GFAP expression in biopsies of tumor tissue of rat glioma C6 in situ by the 21st and the 28th days after infection; the expression of S 100 by the 7th day of invasion development – 3 times, by the 14th day of invasion – 2.64 times, by the 21st day after infection – 3.07 times, by the 28th day – 4.9 times; the index of proliferative activity Ki 67 by the 7th day of the invasion – 2.02 times, by the 14th day – 1.69 times, by the 21st day after infection – 3 times, and by the 28th day – 4.3 times.

Metastatic foci of low-grade glioma have been revealed in the lungs of rats on the 28th day of *Trichinella* development. In lung tissue samples, GFAP expression by the 28th day was estimated to be 1+ (11%; 95% CI : 110.21-139.88; IRS=4). The expression of S 100 in the same samples was at the level of 1+ (15%; 95% CI : 123.27-132.12; IRS=4), and proliferative activity of the tumor (Ki-67) made up 40% (95% CI : 299.44-455.68).

The expression of proteins S 100, GFAP, proliferative activity index Ki-67 in animals infected with *T. spiralis* was significantly higher than that in the groups with «pure» glioma in almost all periods of observation. On the 28th day after infection (35th the day of glioma growth) metastatic foci of glioma were found in the lungs.

Key words: rat, glioma, immunohistochemical parameters, GFAP, S 100, Ki-67, *Trichinella spiralis*.

Трихинеллёз относится к древнейшим гельминтозным заболеваниям животных и человека. Болезнетворное воздействие трихинелл на организм хозяина очень велико [1, 2]. Во время паразитирования гельминта наблюдается: объедание хозяина, воздействие по месту локализации, влияние на иммунный гомеостаз, отягощение инфекционных заболеваний и т.д. [2, 3].

Неоспоримым фактом является то, что гельминты оказывают механическое, химическое, мутагенное воздействия на различных этапах развития организма, что, в свою очередь, может привести к активации канцерогенных процессов [2]. На данный момент роль круглых червей в бластомогенезе является не изученной.

Цель работы – установить влияние инвазии *Trichinella spiralis* в дозе заражения 10 личинок на 1 грамм массы тела животного на иммуногистохимические показатели в тканях экспериментальной глиомы крыс в различные сроки наблюдения.

Материал и методы

Эксперимент поставлен с использованием 80 самок крыс линии Wistar массой 180-200 г, которые в течение двух недель находились в условиях карантина для соблюдения чистоты опыта. Все манипуляции с животными проводились в соответствии с рекомендациями Конвенции Совета Европы по охране позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях (European Convention for the Protection

of Vertebrate Animals for Experimental and Other Scientific Purposes: Strasbourg, Council of Europe, 51 pp; 18.03.1986), Директивой Совета ЕЭС от 24.11.1986 (Council Directive on the Approximation of Laws, Regulations and Administrative Provisions of the Member States Regarding the Protection of Animal Used for Experimental and Other Scientific Purposes), рекомендациями FELASA Working Group Report (1994-1996), ТКП 125-2008, методическими указаниями «Положение о порядке использования лабораторных животных в научно-исследовательских работах и педагогическом процессе УО «Витебский государственный медицинский университет» и мерами по реализации требований биомедицинской этики», 2010.

Вначале самок крыс разделяли на 8 групп для проведения 2 серий эксперимента. Животным всех групп для воспроизведения модели глиомы in situ вводили опухолевые клетки крысиной глиомы С6 во внутреннюю область бедра в концентрации 10х10⁶ подкожно. В другое бедро проводили инъекцию дексаметазона в дозировке 0,001 мл (4,0 мг/мл) на 1 г массы животного. Дексаметазон вводили ежедневно в течение 7 суток после перевивки, а с 8-х суток – кратностью через сутки в течение 14 суток.

В первой серии (1-4 группы) эксперимента участвовали 40 животных, опухолевый материал которых изучали для получения результатов в «чистой» крысиной глиоме С6 in situ.

В соответствии с графиком эксперимента биоптаты опухоли (14-е, 21-е, 28-е, 35-е сутки

развития), печени, легких, головного мозга забирали для макроскопического, гистологического, иммуногистохимического анализов основных глиомных показателей: GFAP (glial fibrillary acidic protein), S 100, а также оценки маркера пролиферативной активности Ki-67 [4].

Вторая серия эксперимента (5-8 группы) проведена на 40 самках крыс линии Wistar для оценки влияния *T. spiralis* и их метаболитов на иммуногистохимические показатели в тканях экспериментальной глиомы крыс (GFAP, S 100, Ki 67) в зависимости от сроков развития инвазии. Животные второй серии были заражены перорально в дозе 10 личинок *T. spiralis* на 1 г массы тела животного на 7-е сутки после введения опухолевых клеток С6.

Инвазионную культуру личинок получали путем переваривания мышечной массы крыс, у которых многократными пассажами поддерживали жизнеспособность *T. spiralis* [5]. Для переваривания мышечной массы крыс использовали искусственный желудочный сок в следующем разведении: 1% пепсина фирмы Biochem 3000 единиц активности, 1% соляной кислоты, 98% дистиллированной воды. Полученный осадок, содержащий культуру личинок трихинелл, очищали путем многократной промывки в 0,9% растворе хлорида натрия при комнатной температуре. Количество инвазионных (подвижные и неповрежденные) личинок в полученной взвеси подсчитывали с использованием микроскопа Leica DM 2500 в 10 мкл не менее 3 раз для достижения достоверного результата. Нужной концентрации личинок во взвеси для последующего использования добивались, добавляя 2% крахмальный клейстер к полученной взвеси. Пероральное введение животным готовой инвазионной культуры проводили шприцем, оснащенный зондом, с железной оливой на конце.

Выведение животных из эксперимента осуществляли путем дислокации шейных позвонков под воздействием эфирного наркоза на 7-е сутки (кишечная стадия, 14-й сутки развития опухоли), 14-е (миграционная стадия, 21-е сутки развития опухоли) и 21-е, 28-е сутки (мышечная стадия, 28-е и 35-е сутки развития глиомы соответственно) развития трихинелл и проводили забор материала (опухоль, печень, легкие, головной мозг).

Материал, полученный от всех экспериментальных животных, погружали в забуференный формалин на 24 ч, после чего осуществляли его заливку в парафин [4]. Затем готовили гисто-

логические препараты для обзорного изучения, которые окрашивали гематоксилин-эозином и заключали срезы в полистирол [6].

Для проведения ИГХ-исследования проводили изготовление серийных парафиновых срезов с использованием стекол, обработанных поли-L-лизинном на микротоме Leica RM 2125 RT для последующей депарафинизации и обезвоживания. Демаскировку антигенов осуществляли буфером (Wuhan Elabscience Biotechnology Incorporated Company). Иммуногистохимическую реакцию в готовом материале к рецепторам GFAP (E-AB-10345), S100 (E-AB-32841), Ki-67 (E-AB-22027) проводили в соответствии с инструкциями фирмы-производителя и системы визуализации 2-step plus Poly-HRP Anti Rabbit/Mouse IgG Detection System (with DAB Solution, Wuhan Elabscience Biotechnology Incorporated Company, Китай, E-IR-R213). Затем препараты докрашивали гематоксилином [4].

Оценку ИГХ-окрашивания проводили с применением светового микроскопа Leica DM 2500 в 1000 клетках каждого среза с обязательным учетом локализации окрашивания в клетке (ядро, цитоплазма и/или мембрана), интенсивности окрашивания (в области с максимальной экспрессией) и процента окрашенных клеток [4]. Опухоль считали отрицательной при отсутствии цитоплазматического окрашивания или при окрашивании менее 10% клеток; глиому оценивали в 1 балл (1+) при окрашивании цитоплазмы от 10 до 25% клеток; в 2 балла (2+) – при окрашивании цитоплазмы от 26 до 50% клеток; в 3 балла (3+) – при окрашивании цитоплазмы более чем у 50% клеток (GFAP, S 100).

Ki-67 (пролиферативную активность опухоли) оценивали как процент положительных ядер в клетках опухоли. Результат считали отрицательным, если в ткани опухоли отсутствовала выраженная ядерная экспрессия с антителами или количество окрашенных ядер составляло менее 10%; положительным - при окраске более 10% опухолевых клеток, оцениваемых в области максимальной экспрессии маркера; к опухоли с высокой пролиферативной активностью относили материал с экспрессией Ki-67 в более чем 40% клеток; низкая пролиферативная активность была характерна при экспрессии Ki-67 в менее 40% клеток опухоли [4].

Иммунологическую реактивность (IRS) рассчитывали путем суммирования баллов доли окрашенных клеток и интенсивности их окраски.

Опухоль считали позитивной при суммарном балле более или равном трем [4].

Различия между группами оценивали по критерию Манна–Уитни (Mann–Whitney, U-test) и считали статистически значимыми при $p < 0.05$. Обработку данных проводили с помощью программы Statistica 10.

Результаты

Оценка результатов первой серии эксперимента (забор опухоли на 14-е, 21-е, 28-е, 35-е сутки) показала, что макроскопически и гистологически новообразование соответствует глиоме.

Макроскопический и гистологический анализ печени, легких, головного мозга, забранных на 14-е, 21-е, 28-е, 35-е сутки развития глиомы крыс С6 in situ первой серии эксперимента, изменений не выявил.

При оценке тканей глиом, полученных на 14-е, 21-е, 28-е, 35-е сутки развития опухоли от самок крыс линии Wistar первой серии опытов, установлено следующее: экспрессия GFAP к 14-м суткам составила 1+ (12%; 95% ДИ : 108,96–144,63; IRS=4); к 21-м суткам – 1+ (17%; 95 % ДИ : 137,04–206,15; IRS=4); к 28-м суткам – 1+ (12%; 95 % ДИ : 112,81–134,58; IRS=4); на 35-е сутки – 1+ (10%; 95% ДИ : 100,48–114,71; IRS=4).

Экспрессия S 100 в этих же образцах к 14-м суткам находилась на уровне 1+ (15%; 95% ДИ : 128,57–173,22; IRS=4); к 21-м суткам – 1+ (17%; 95% ДИ : 153,51–191,51; IRS=4); к 28-м суткам – 1+ (13%; 95% ДИ : 119,8–142,96; IRS=4); на 35-е сутки – 1+ (10%; 95% ДИ : 100,13–106,46; IRS=4).

Пролиферативная активность опухоли (Ki-67) на 14-е сутки развития составила 35% (95 % ДИ : 321,66–391,33); к 21-м суткам – 36% (95% ДИ : 332,76–389,23); к 28-м суткам – 15% (95% ДИ : 142,28–155,71); на 35-е сутки – 10% (95% ДИ : 100,45–104,14).

Анализ данных животных второй серии после оценки материала на всех сроках развития инвазии показал, что макроскопически и гистологически глиома не отличалась от опухоли, полученной в первой серии опытов.

Гистологический анализ биоптатов легких, печени, а также головного мозга, забранных на 7-е, 14-е и 21-е сутки после инвазии трихинеллами, на всех сроках наблюдения не показал никаких изменений. Исключением являлся гистологический материал легких, забранный на 28-й день развития трихинелл (35-е сутки роста глиомы).

В легких было обнаружено неравномерное кровенаполнение сосудов с преобладанием венозно-капиллярного полнокровия, эритросты. Стенки ряда сосудов были утолщены, разрыхлены, разволокнены. Вокруг отдельных сосудов наблюдались умеренные и выраженные периваскулярные полиморфноклеточные инфильтраты. Воздушность лёгочной ткани на всей площади срезов была снижена в результате утолщения стенок альвеол из-за клеточной пролиферации. На срезах были представлены небольшие бронхи со слабо выраженным отёком. Отдельные бронхи были резко сужены из-за перибронхиальной инфильтрации полиморфными клетками. Просветы бронхов содержали слизь, отдельные эпителиальные клетки и сегментоядерные лейкоциты. Большую часть среза легочной ткани вокруг среднего бронха занимал округлый очаг, представленный разрастанием опухолевой ткани с очагами некроза. В нем наблюдался клеточный атипизм, наличие патологических форм митозов и циркулирующих опухолевых клеток. Гистологическое заключение: метастатические очаги глиомы, отек легких. Материал забран для иммуногистохимического исследования.

При анализе гистологических срезов печени было выявлено, что в срезах печени кровенаполнение синусоидных капилляров варьировало от слабого до очагового полнокровия. Отмечалось расширение пространства Диссе, очаговое полнокровие центральных вен (эритросты, сладж-феномен). Балочно-радиальное строение долек было стерто на фоне умеренно выраженной крупнокапельной жировой и гидропической дистрофий гепатоцитов. Портальные тракты имели обычную величину. Капсула печени не изменялась. Гистологическое заключение: отек и умеренно выраженные крупнокапельная жировая и гидропическая дистрофии.

Анализ гистологических срезов головного мозга: в веществе мозга отмечалось неравномерное кровенаполнение сосудов, в ряде сосудов – сладж-феномен, умеренная плазматизация стенок, неравномерно выраженный отёк вещества мозга, характеризующийся просветлением периваскулярных, перицеллюлярных пространств и пространств вокруг элементов глии с умеренным очаговым сетчатым отёком различной распространенности.

Наблюдались дистрофические изменения нейронов: отдельные клетки имели неправильную форму, зубчатые очертания, частичный хрома-

толиз, вакуоли или сотовидные структуры в просветлённой части клетки, смещение ядра («тающие нейроны»). Отмечено наличие клеток-«теней» с гомогенной бледно окрашенной цитоплазмой, с неконтурирующимися клеточной и ядерной мембранами, бледно окрашенным ядрышком. Гистологическое заключение: умеренный отек и дистрофические изменения нейронов.

Так как в образцах органов (печень, головной мозг) не было обнаружено материала, требующего иммуногистохимических исследований, определение ИГХ-маркеров и индекса пролиферативной активности осуществляли в опухоли и легких.

Экспрессия GFAP в биоптатах опухолевой ткани к 7-м суткам развития инвазии составила 1+ (19%; 95% ДИ : 162,00-220,19; IRS=4); к 14-м суткам – 1+ (23%; 95% ДИ : 147,70-310,09; IRS=4); к 21-м суткам – 2+ (37%; 95% ДИ : 313,14-426,85; IRS=6); на 28-е сутки – 2+ (38%; 95% ДИ : 317,21-443,98; IRS=6).

Экспрессия S 100 к 7-м суткам после заражения находилась на уровне 2+ (45%; 95% ДИ : 331,27-577,12; IRS=6); к 14-м суткам – 2+ (45%; 95% ДИ : 281,42-619,37; IRS=6); к 21-м суткам – 2+ (40%; 95% ДИ : 353,51-446,88; IRS=6); на 28-е сутки – 2+ (49%; 95% ДИ : 367,94-617,25; IRS=6).

Пролиферативная активность опухоли (Ki-67) на 7-е сутки развития трихинелл составила 71% (95% ДИ : 566,93-862,06); к 14-м суткам – 61% (95% ДИ : 281,42-619,37); к 21-м суткам – 40% (95% ДИ : 298,42-463,57); на 28-е сутки – 43% (95% ДИ : 417,15-445,24).

Экспрессия GFAP в биоптатах ткани легких к 28-м суткам оценивалась в 1+ (11%; 95% ДИ : 110,21-139,88; IRS=4). Экспрессия S 100 в этих же образцах к 28-м суткам развития трихинелл находилась на уровне 1+ (15%; 95% ДИ : 123,27-132,12; IRS=4), а пролиферативная активность опухоли (Ki-67) составляла 40% (95% ДИ : 299,44-455,68).

Обсуждение

В настоящее время в литературе уделяется большое внимание патогенетическим механизмам взаимоотношений «паразит-хозяин» при трихинеллезе [1-3]. Это обусловлено тем, что данное природно-очаговое заболевание зачастую протекает тяжело, с развитием летальных исходов. Установлено, что жизнедеятельность трихинелл на протяжении всего цикла развития

влияет на организм хозяина на молекулярно-генетическом, клеточном уровнях (мутагенное, цитотоксическое, генотоксическое и эмбриотоксическое действие), повреждая его иммунную систему, а также способствует развитию осложнений различных заболеваний. Данные о влиянии трихинеллеза на возникновение и течение онкологических заболеваний в литературе отсутствуют. Впервые на разработанной нами экспериментальной модели опухоли крысиной глиомы C6 in situ было показано, что инвазия *T. spiralis* повышает экспрессию GFAP в биоптатах опухолевой ткани крысиной глиомы C6 in situ к 21-м и 28-м суткам после заражения в 3,08 и 3,8 раза соответственно; экспрессию S 100 к 7-м суткам развития инвазии в 3 раза, к 14-м – в 2,64 раза, к 21-м суткам после заражения – в 3,07 раза, к 28-м суткам – в 4,9 раза; индекс пролиферативной активности Ki 67 к 7-м суткам развития инвазии в 2,02 раза, к 14-м – в 1,69 раза, к 21-м суткам после заражения – в 3 раза, а к 28-м суткам – в 4,3 раза. Кроме того, на 28-е сутки развития трихинелл (35-е сутки развития опухоли) нами обнаружены метастатические очаги глиомы в легких крыс, которые подтверждены гистологическим и иммуногистохимическим путем. Так, экспрессия GFAP в биоптатах ткани легких к 28-м суткам оценивалась в 1+ (11%; 95% ДИ : 110,21-139,88; IRS=4). Экспрессия S 100 в этих же образцах к 28-м суткам развития трихинелл находилась на уровне 1+ (15%; 95% ДИ : 123,27-132,12; IRS=4), а пролиферативная активность опухоли (Ki-67) составляла 40% (95% ДИ : 299,44-455,68).

Таким образом, экспрессия белков S 100, GFAP, индекс пролиферативной активности Ki-67 у зараженных *T. spiralis* животных значительно выше, чем в группах с «чистой» глиомой практически на всех сроках наблюдения. Обнаруженные метастатические очаги глиомы в легких могут говорить об активации патогенетических механизмов, приводящих к увеличению активности и агрессивности опухолевого роста на фоне трихинеллеза.

Полученные данные свидетельствуют о том, что инвазия трихинеллами в дозе 10 личинок на 1 г массы животного может способствовать не только более бурному росту крысиной глиомы C6 in situ, но и ее метастазированию.

Литература

1. Малютин, Т. А. Взаимоотношения в системе паразит

- хозяин: биохимические и физиологические аспекты адаптации (ретроспективный обзор) / Т. А. Малютина // Рос. паразитол. журн. – 2008. - № 1. – С. 24–40.
2. Пашинская, Е. С. Биогенетические аспекты паразитирования трихинелл у млекопитающих / Е. С. Пашинская, В. В. Побяржин, Л. Э. Бекиш ; М-во образования Республики Беларусь, УО «Витебский гос. ордена Дружбы народов мед. ун-т». – Витебск : ВГМУ, 2016. – 200 с.
 3. Hopkin, J. Immune and genetic aspects of asthma allergy and parasitic worm infections evolutionary links / J. Hopkin // Parasite Immunol. – 2009 May. – Vol. 31, N 5. – P. 267-273.
 4. Иммуногистохимические методы исследования новообразований различного генеза : инструкция по применению № 160-1110 : утв. М-вом образования Республики Беларусь 11 февр. 2011 г. / Э. А. Надыров [и др.]. – Гомель, 2011. – 20 с.
 5. Бекиш, О.-Я. Л. Экспериментальный трихинеллез: методы воспроизведения модели / О.-Я. Л. Бекиш, И. И. Бурак, Н. Н. Острейко ; Витеб. мед. ин-т. – Витебск, 1982. – 20 с. – Деп. в ВНИИМИ 20.09.82, № Д-5592.
 6. Сапожников, А. Г. Гистологическая и микроскопическая техника : руководство / А. Г. Сапожников, А. Е. Доросевич. – Смоленск : САУ, 2000. – 476 с.

Поступила 19.06.2019 г.

Принята в печать 27.09.2019 г.

References

1. Malyutina TA. Relationships in the parasite-host system: biochemical and physiological aspects of adaptation (retrospective review). Ros Parazitol Zhurn. 2008;(1):24-40. (In Russ.)
2. Pashinskaya ES, Pobyarzhin VV, Bekish LE; M-vo obrazovaniia Respubliki Belarus', UO Vitebskii gos ordena Druzhyby narodov med un-t. Biogenetic aspects of parasitization of trichinella in mammals. Vitebsk, RB: VGMU; 2016. 200 p. (In Russ.)
3. Hopkin J. Immune and genetic aspects of asthma allergy and parasitic worm infections evolutionary links. Parasite Immunol. 2009 May;31(5):267-73. doi: 10.1111/j.1365-3024.2009.01104.x
4. Nadyrov EA, Rogov YuI, Dubrovskiy ACh, Voropaev EV, Achinovich SL, Krylov AYU, i dr. Immunohistochemical methods for the study of neoplasms of various origins: instruktssiia po primeneniiu № 160-1110: utv. M-vom obrazovaniia Respubliki Belarus' 11 fevr 2011 g. Gomel, RB; 2011. 20 p. (In Russ.)
5. Bekish O-YaL, Burak II, Ostreyko NN; Viteb med in-t. Experimental Trichinosis: Model Reproduction Techniques. Vitebsk, RB; 1982. 20 r. Dep v VNIIMI 20.09.82, № D -5592. (In Russ.)
6. Sapozhnikov AG, Dorosevich AE. Histological and microscopic technique: rukovodstvo. Smolensk, RF: SAU; 2000. 476 p. (In Russ.)

Submitted 19.06.2019

Accepted 27.09.2019

Сведения об авторах:

Побяржин В.В. – к.б.н., доцент, докторант кафедры инфекционных болезней, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

Information about authors:

Pabyarzhyn V.V. – Candidate of Biological Sciences, associate professor, doctoral candidate of the Chair of Infectious Diseases, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра инфекционных болезней. E-mail: tulovo22@rambler.ru – Побяржин Вячеслав Войтехович.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Infectious Diseases. E-mail: tulovo22@rambler.ru – Vyacheslav V. Pobyarzhin.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ АЛГОРИТМА ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С НЕСПЕЦИФИЧЕСКИМИ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПОЗВОНОЧНИКА

ПЕТУХОВ В.И., КУБРАКОВ К.М., КОРНИЛОВ А.В., КУНЦЕВИЧ М.В.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2019. – Том 18, №5. – С. 59-68.

THE EVALUATION OF THE EFFICACY OF THE ALGORITHM USED FOR TREATMENT OF PATIENTS WITH NONSPECIFIC PYO-INFLAMMATORY DISEASES OF THE SPINE

PETUKHOV V.I., KUBRAKOV K.M., KORNILOV A.V., KUNCEVICZ M.V.

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2019;18(5):59-68.

Резюме.

Цель – разработать алгоритм лечения пациентов с неспецифическими гнойно-воспалительными заболеваниями позвоночника в зависимости от степени распространения гнойного процесса и оценить его эффективность.

Материал и методы. Оценка эффективности разработанного алгоритма производилась по количеству повторных госпитализаций и койко-дню пациентов с неспецифическими гнойно-воспалительными заболеваниями позвоночника (НГЗП). В ретроспективную группу вошли 28 пациентов, проходивших лечение на базах гнойной хирургии и нейрохирургии УЗ «Витебская областная клиническая больница» до внедрения алгоритма, в проспективную – 46 пациентов, проходивших лечение на базе торакального гнойного хирургического отделения согласно разработанному алгоритму.

У пациентов проспективной группы для оценки эволюции неврологических нарушений использовали модифицированную шкалу Frankel, а для оценки болевого синдрома – визуальную аналоговую шкалу боли (ВАШ). Оценка неврологического статуса проводилась при поступлении, при выписке и при контрольной госпитализации через 1-2 месяца.

Результаты. При оценке болевого синдрома наблюдали значительное уменьшение показателей интенсивности боли: 8 [7-9] баллов при поступлении, 1,5 [1-3] при выписке из стационара и 0 [0-2] баллов при контрольном обследовании ($P_{\text{Wilcoxon}} < 0,001$).

Отмечен статистически значимый регресс неврологического дефицита ($P_{\text{Wilcoxon}} < 0,001$), с переходом 100% выживших пациентов из класса Frankel_m A, 100% – из Frankelm B, 100% из Frankel_m C и 78,5% из класса Frankel_m D в более высокие классы.

Внедрение разработанного алгоритма лечения пациентов с НГЗП позволило снизить количество повторных госпитализаций пациентов с 25,9% до 4,3% ($p=0,049$), уменьшить средний койко-день с $55,18 \pm 7,64$ до $38,50 \pm 2,90$ суток ($p=0,028$) и позволило снизить затраты на лечение на 41581,89 BYN/год.

Заключение. Внедрение в практику разработанного алгоритма лечения пациентов с НГЗП позволяет добиться значимого уменьшения болевого синдрома и регресса неврологического дефицита, а также снизить количество рецидивов заболевания и повторных госпитализаций, что, в свою очередь, снижает затраты на лечение.

Ключевые слова: остеомиелит позвоночника, спондилодисцит, спинальный эпидуральный абсцесс, алгоритм лечения, неврологические нарушения.

Abstract.

Objectives. To develop an algorithm for the treatment of patients with nonspecific pyo-inflammatory diseases of the spine, depending on the extent of the purulent process and to evaluate its efficacy.

Material and methods. The evaluation of the developed algorithm efficacy was carried out according to the number of repeated hospitalizations and the bed-day of patients with non-specific pyo-inflammatory diseases of the spine (NPDS). The retrospective group included 28 patients who had undergone treatment at the bases of purulent surgery and neurosurgery of the Vitebsk Regional Clinical Hospital before the introduction of the algorithm; the prospective group consisted of 46 patients who were receiving treatment at the thoracic purulent surgical department in accordance with the developed algorithm.

In patients of the prospective group, the modified Frankel scale was used to evaluate the evolution of neurological disorders, and the visual analogue pain scale (VAS) was made use of to assess the pain syndrome. The evaluation of the neurological status was carried out on admission, on discharge from the hospital and during the control hospitalization in 1-2 months.

Results. We observed a significant decrease in pain intensity: 8 [7-9] points on admission, 1.5 [1-3] on discharge from the hospital and 0 [0-2] points on the follow-up examination ($P_{\text{Wilcoxon}} < 0.001$). There was a statistically significant regression of neurological deficit ($P_{\text{Wilcoxon}} < 0.001$), with a transition of 100% of survivors from Frankel A class, 100% from Frankel B, 100% from Frankel C and 78.5% from Frankel D class to higher classes.

The introduction of the developed algorithm for the treatment of patients with NPDS into practice allowed to decrease the number of repeated hospitalizations of patients from 25.9% to 4.3% ($p = 0.049$), to reduce the average hospital bed-day from 55.18 ± 7.64 to 38.50 ± 2.90 days ($p = 0.028$) and to cut treatment costs by 41581.89 BYN / year.

Conclusions. The application of the developed algorithm for the treatment of patients with NPDS to practice enables the significant reduction of pain and neurological deficit regression, as well as the decrease in the number of relapses and repeated hospitalizations, which in its turn cuts the treatment costs.

Key words: *spinal osteomyelitis, spondylodiscitis, spinal epidural abscess, treatment algorithm, neurological disorders.*

Неспецифические гнойно-воспалительные заболевания позвоночника (НГЗП) представляют собой группу патологий, сопровождающихся воспалительным поражением передних и задних костных структур позвоночного столба, эпидуральной клетчатки и паравerteбральных тканей. В зависимости от локализации и распространения гнойного процесса выделяют дисциты, спондилиты, спондилодисциты, спинальные эпидуральные абсцессы (СЭА) [1]. Развитие таких гнойных осложнений, как эмпиема плевры, медиастинит, паравerteбральные абсцессы, гнойный псоит и забрюшинная флегмона значительно усугубляют тяжесть течения заболевания и приводят к развитию синдрома системного воспалительного ответа (ССВО) и сепсиса [2].

Ранняя диагностика НГЗП представляет собой достаточно трудную задачу. Это обусловлено отсутствием специфичных симптомов на ранних этапах. Согласно рекомендациям Американского общества по инфекционным болезням (IDSA) заподозрить НГЗП следует в случае наличия у пациента вертеброгенного болевого синдрома и ССВО [3]. Однако признаки системной воспалительной реакции не у всех пациентов могут быть выражены довольно ярко. Лейкоцитоз может присутствовать у 40% пациентов, гипертермия также не всегда выражена и может иметь кратковременный характер. Более чувствитель-

ными индикаторами наличия воспалительного процесса выступают повышение скорости оседания эритроцитов (СОЭ) и уровня С-реактивного белка (СРБ) в крови [4].

Однако, несмотря на достаточно большой спектр диагностических возможностей (магнитно-резонансная томография (МРТ), компьютерная томография (КТ), остеосцинтиграфия), время постановки диагноза составляет в среднем от 1-3 мес. до 1,5-2 лет [5, 6]. Такая задержка приводит к развитию гнойных и тяжелых неврологических осложнений. Выполнение спондилодеза в условиях распространенного гнойного процесса повышает риск развития некроза и отторжения трансплантата, делает невозможным установку металлоконструкций для переднего корпорозеда и увеличивает вероятность рецидива гнойного заболевания [7].

Разработка алгоритмов ведения пациентов с НГЗП, включающих варианты выбора способов лечения с локальной формой инфекции в структурах позвоночного столба и с массивными экстравертебральными гнойными осложнениями, является актуальной задачей.

Цель – разработать алгоритм лечения пациентов с неспецифическими гнойно-воспалительными заболеваниями позвоночника в зависимости от степени распространения гнойного процесса и оценить его эффективность.

Материал и методы

За период с января 2017 по март 2019 года на базе торакального гнойного хирургического отделения проходили лечение 46 пациентов с НГЗП. Медиана возраста пациентов составила 63 [57; 69] года. Мужчин среди них было 28 (60,87%), женщин – 18 (39,13%). Спондилодисцит был диагностирован у 43 пациентов, гнойный эпидурит как осложнение спондилодисцита – у 11, изолированный СЭА – у 3 человек.

При поступлении у всех пациентов (n=46) был изучен общесоматический, неврологический и локальные статусы, выполнены лабораторные (общий анализ крови, мочи, биохимический анализ крови, коагулограмма, СРБ, иммунограмма), а также инструментальные методы исследования (рентгенография позвоночника, КТ, МРТ, остеосцинтиграфия, УЗИ органов брюшной полости).

Дополнительно все пациенты были осмотрены узкими специалистами для целенаправленного поиска гнойных процессов: челюстно-лицевой хирург, оториноларинголог, гинеколог. При необходимости пациенты консультировались терапевтом, эндокринологом, ревматологом, кардиологом.

Неврологический осмотр пациентов включал исследование высшей мозговой деятельности, двигательной и чувствительной сферы, функции тазовых органов, а также степени выраженности болевого синдрома по визуальной аналоговой шкале боли (ВАШ) от 0 до 10 баллов. Исследование болевого синдрома в последующем проводилось также в послеоперационном периоде, на момент выписки пациента из стационара и при контрольной госпитализации.

Оценка неврологического статуса проводилась в соответствии с международными стандартами неврологической классификации травмы спинного мозга с заполнением бланка ISNCSCI (International Standards for Neurological Classification of Spinal Cord Injury) пересмотра 2015 года.

Однако, учитывая наличие пациентов с локализацией гнойно-воспалительного процесса ниже L1 позвонка, применение шкалы AIS – 2015, рекомендованной данной ассоциацией, для оценки динамики неврологического статуса не предоставляется возможным [8-10]. Поэтому для выставления класса неврологического дефицита нами была взята за основу и модифицирована шкала Frankel (далее Frankel_m), которая учитывает наличие у пациента как центрального, так и периферического пареза или паралича (табл. 1).

При анализе неврологических изменений у 18 (39,13%) пациентов был выявлен парез, а у 6 (13,04%) – парез нижних конечностей. Нарушение функции тазовых органов было определено у 13 (28,26%) человек. У остальных пациентов нарушений неврологического статуса не было установлено, однако болевой синдром у них составил 8 [7-9] баллов.

По данным КТ и МРТ поражение шейного отдела позвоночника выявлено у 1 (2,2%) пациента, грудного – у 15 (32,6%), нижнегрудного и верхних поясничных позвонков – у 3 (6,5%), только поясничного – у 20 (43,5%), многоуровневое поражение – у 7 (15,2%) пациентов.

Диагностика и лечение проводились согласно инструкции по применению МЗ РБ № 064-0519 от 17.05.2019 «Алгоритм лечения пациентов с неспецифическими гнойно-воспалитель-

Таблица 1 – Модифицированная классификация (Frankel_m) выраженности двигательных и чувствительных спинальных нарушений у пациентов с НГЗП

Группа	Степень неврологических нарушений
А	Отсутствие двигательных и чувствительных функций (включая зоны иннервации S4-5 сегментов спинного мозга) на уровне и ниже локализации гнойно-воспалительного очага в позвоночнике.
В	Плегия (или единичные ключевые группы мышц с силой 1 балл), но с сохранившейся чувствительностью или ее элементами на уровне и ниже локализации гнойно-воспалительного очага в позвоночнике.
С	Выраженный парез (имеются 1 и более ключевых групп мышц ниже уровня патологического процесса в позвоночнике с силой менее 3 баллов), чувствительность сохранена на уровне и ниже локализации гнойно-воспалительного очага в позвоночнике.
Д	Слабый парез (мышечная сила всех ключевых мышц ниже уровня поражения — больше 3 баллов) и нормальная чувствительность на уровне и ниже локализации гнойно-воспалительного очага в позвоночнике.
Е	Без неврологических нарушений или с легким парезом, не нарушающим трудоспособность.

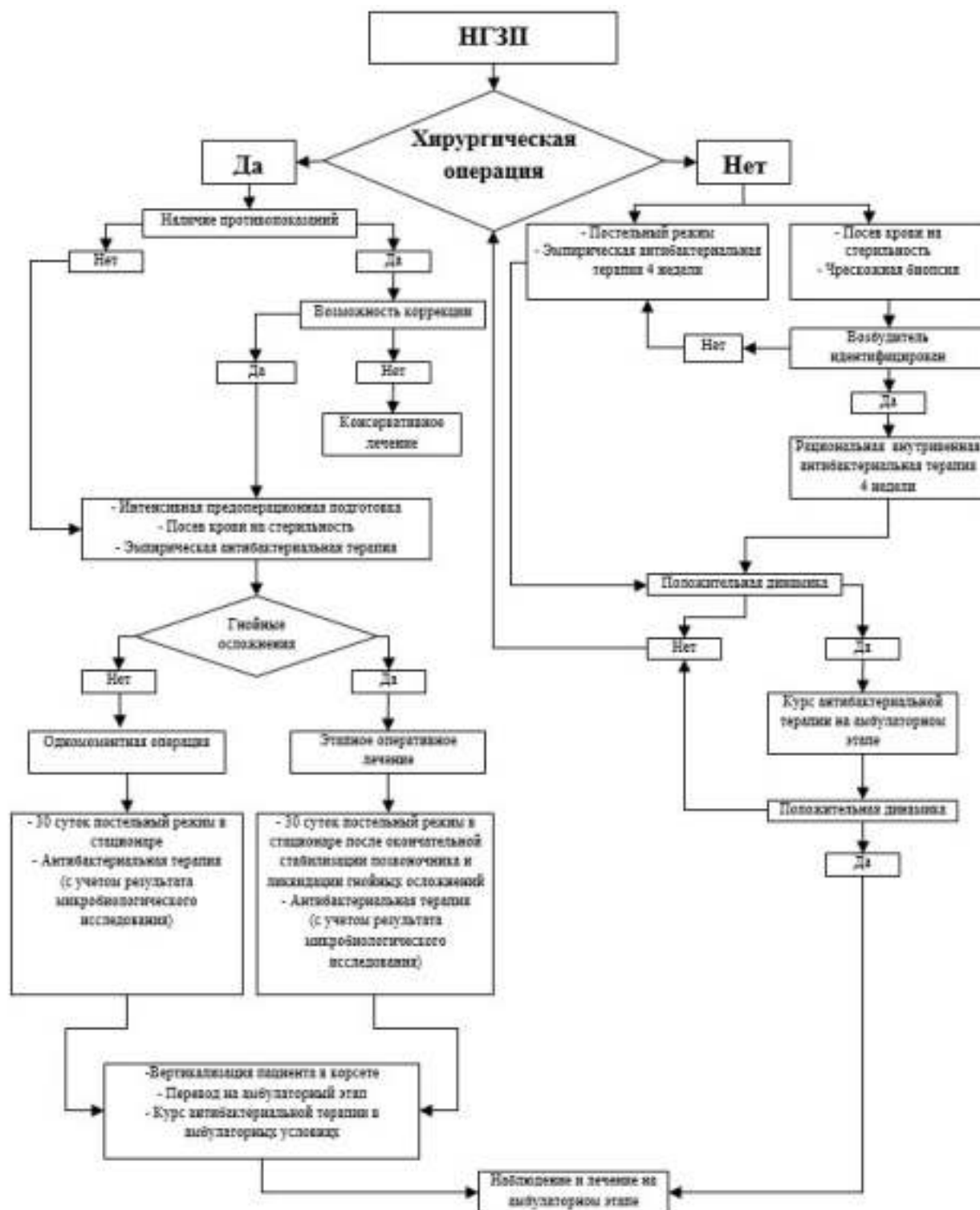


Рисунок 1 – Алгоритм лечения пациентов с неспецифическим гнойно-воспалительным заболеванием позвоночника.

ными заболеваниями позвоночника».

Согласно алгоритму, представленному на рисунке 1, показания к операции были определены у 36 (77,8%) пациентов. При отсутствии по-

казаний к операции пациенты получали консервативное лечение – 10 (22,2%) человек.

Основными показаниями к оперативному лечению являлись: гнойные осложнения (СЭА,

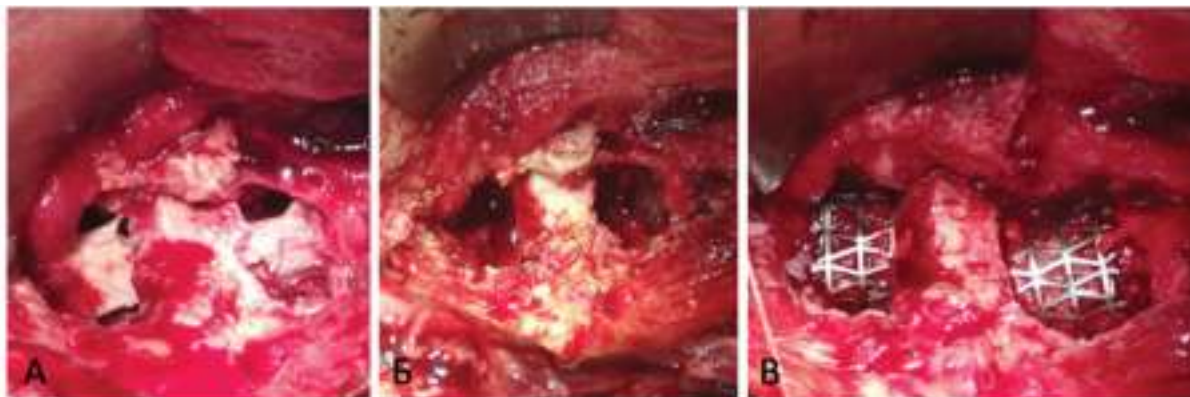


Рисунок 2 – А – Временные трансплантаты (участки ребра) в чистой гранулирующей ране после удаления вакуумной повязки; Б – временные трансплантаты удалены; В – окончательная стабилизация позвоночника titanium mesh cage на двух уровнях.

эмпиема плевры, гнойный псоит, забрюшинная флегмона, превертебральный и/или параспинальный абсцесс, медиастинит и др.), выраженный / прогрессирующий неврологический дефицит, нестабильность позвоночного столба (при поражении средней или 2 и более опорных колон по Denis), отрицательная динамика / отсутствие положительной динамики при консервативном лечении, стойкий длительный выраженный болевой синдром без положительной динамики на фоне консервативной терапии, ССВО без ответа на консервативную терапию, сепсис [11, 12].

Противопоказаниями к операции были: острые и хронические заболевания и/или патологические состояния в стадии декомпенсации, септический шок [11, 12].

При отсутствии у пациента гнойных осложнений выполняли одномоментную операцию, включающую санацию гнойного очага в позвоночнике и спондилодез.

При наличии гнойных осложнений выполняли этапное хирургическое лечение, которое включало санацию всех гнойных очагов, временную переднюю стабилизацию позвоночника и установку вакуумной повязки. Через каждые 3-5 дней выполняли замены вакуумной повязки до полного очищения раны. Завершающим этапом хирургического лечения являлось удаление вакуумной повязки и окончательная стабилизация позвоночника в условиях чистой гранулирующей раны – рисунок 2 (инструкция по применению МЗ РБ № 161-1118 от 14.12.2018 «Метод хирургического лечения эпидуральных спинальных абсцессов») [13].

При ретродуальном расположении СЭА применяли метод его санации задним доступом

через интерламнарные окна на протяжении всего гнойного процесса и установку вакуумной повязки с ее последующими заменами через каждые 3-5 дней до полного очищения раны (инструкция по применению МЗ РБ № 040-518 от 01.06.2018 «Метод этапного хирургического лечения, осложненного неспецифического спондилодисита») [14].

Анализ динамики болевого синдрома и неврологического статуса пациентам проводились ежедневно в стационаре, а также при контрольных госпитализациях в сроки от 1,5 до 2 месяцев после выписки из стационара. При контрольном обследовании всем пациентам в обязательном порядке выполнялись КТ или МРТ – исследования. Выявление отрицательной динамики (появление гнойных осложнений, вовлечение в патологический процесс ранее интактных позвонков и межпозвонковых дисков, развитие нестабильности или прогрессирование кифотической / сколиотической деформации позвоночника) являлось показанием к хирургической операции.

Контрольное обследование не было выполнено у 11 пациентов: из них в 2 случаях в связи с летальным исходом в силу крайне тяжелого септического состояния уже при поступлении в стационар, 9 пациентов не явились на госпитализацию, несмотря на данные им рекомендации.

Для сравнения результатов лечения пациентов с НГЗП до и после внедрения алгоритма была сформирована контрольная ретроспективная группа из 28 пациентов, проходивших лечение на базах отделений гнойной хирургии и нейрохирургии УЗ «ВОКБ» в 2012-2016 годах.

Медиана возраста пациентов ретроспективной группы составила 61 [52-66] год. Мужчин сре-

ди них было 16 (57,14%), женщин – 12 (42,86%). Группы были сопоставимы по полу и возрасту.

Учитывая тот факт, что у пациентов ретроспективной группы не проводилась регистрация болевого синдрома по шкале ВАШ, не оценивалась сила ключевых мышц в баллах, а также пациенты не осматривались в динамике в течение 6 месяцев после первичного курса лечения, сравнительный анализ проводился по количеству рецидивов заболевания и повторных госпитализаций в стационар с лечебной целью (повторный курс антибактериальной терапии или необходимость в оперативном лечении). При повторных госпитализациях с лечебной целью все койко-дни пациента суммировались. У пациентов проспективной группы отсчет койко-дня начинался с момента поступления в отделение торакальной хирургии и начала лечения согласно разработанному алгоритму. Для оценки экономической эффективности применения разработанного алгоритма были рассчитаны и суммированы следующие показатели: предотвращенный экономический ущерб за счет сокращения длительности госпитализаций, предотвращенный экономический ущерб за счет сокращения временной нетрудоспособности за период стационарного лечения, предотвращенный экономический ущерб за счет снижения производительности труда, недопроизведенной продукцией и национального дохода [15]. Оценка производилась в белорусских рублях (BYN).

Статистическая обработка полученных результатов выполнена в программе Statistica 10.0. Нормальность распределения полученных

признаков тестировался методом Шапиро-Уилка. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного интервала Me [LQ-UQ]. Данные койко-дней представлены в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего ($M \pm m$) с целью последующего расчета экономической эффективности. Для анализа динамики показателей болевого синдрома и неврологического дефицита использовался парный критерий Вилкоксона. Для выявления различий в количестве рецидивов заболевания был использован Fisher's test ($p_{\text{two-tailed}}$). Уровень достоверности нулевой гипотезы (p) для принятия решения о значимости полученных результатов статистической обработки во всех тестах был принят равным или менее 0,05.

Результаты и обсуждение

При оценке болевого синдрома у пациентов проспективной группы по шкале ВАШ наблюдали значительное уменьшение показателей интенсивности боли с 8 [7-9] баллов до 1,5 [1-3] при выписке из стационара ($P_{\text{Wilcoxon}} < 0,001$) и до 0 [0-2] баллов при контрольном обследовании через 1,5-2 месяца ($P_{\text{Wilcoxon}} < 0,001$) (табл. 2, 3, рис. 3).

При изучении динамики неврологического дефицита при поступлении в стационар, выписке и контрольном обследовании наблюдался статистически значимый ($P_{\text{Wilcoxon}} < 0,001$) прогрессивный переход пациентов из групп с более тяжелыми неврологическими нарушениями в группы с менее выраженными, а также в группу без не-

Таблица 2 – Показатели неврологического статуса и выраженности болевого синдрома у пациентов с неспецифическим гнойно-воспалительным заболеванием позвоночника в сроки при поступлении, выписке из стационара и контрольном обследовании

Сроки	ВАШ Me [LQ-UQ]	Frankel _m A n (%)	Frankel _m B n (%)	Frankel _m C n (%)	Frankel _m D n (%)	Frankel _m E n (%)
Поступление	8 [7-9]	1 (2,2%)	5 (10,87%)	4 (8,69%)	14 (30,43%)	22 (47,81%)
Выписка	1,5 [1-3]	0 (0%)	1 (2,28%)	3 (6,83%)	7 (15,89%)	33 (75%)
Контроль	0 [0-2]	0 (0%)	0 (0%)	2 (5,71%)	7 (20%)	26 (74,29%)
Умерло / нет данных для сравнения	–	0/0	2/1	0/0	0/0	–
Повышение класса Frankel _m	–	1 (100%)	2 (100%)	4 (100%)	11 (78,5%)	–

Примечание: нет данных для сравнения – пациент выписан без перехода в более высокий класс, а на контрольную госпитализацию не явился. Переход пациента в более высокий класс учитывался, если он был выписан из стационара с более высоким классом или явился с более высоким классом на контрольную госпитализацию.

Таблица 3 – Показатели динамики изменений болевого синдрома и неврологического дефицита у пациентов с неспецифическим гнойно-воспалительным заболеванием позвоночника в сроки при поступлении, выписке из стационара и контрольной госпитализации

Показатели	Динамика неврологического дефицита по Frankel _m			Динамика болевого синдрома (ВАШ)		
	n	Me [LQ - UQ]	Достоверность различий, $P_{Wilcoxon}$	n	Me [LQ - UQ]	Достоверность различий, $P_{Wilcoxon}$
Поступление (п)	46	4 [4-5]		42	8 [7-9]	
Выписка (в)	44	5 [4,5-5]	$P_{п-в} < 0,001$	41	1,5 [1-3]	$P_{п-в} < 0,001$
Контроль (к)	35	5 [4-5]	$P_{п-к} < 0,001$	34	0 [0-2]	$P_{п-к} < 0,001$

Примечание: Frankel_m A – 1, Frankel_m B – 2, Frankel_m C – 3, Frankel_m D – 4, Frankel_m E – 5.

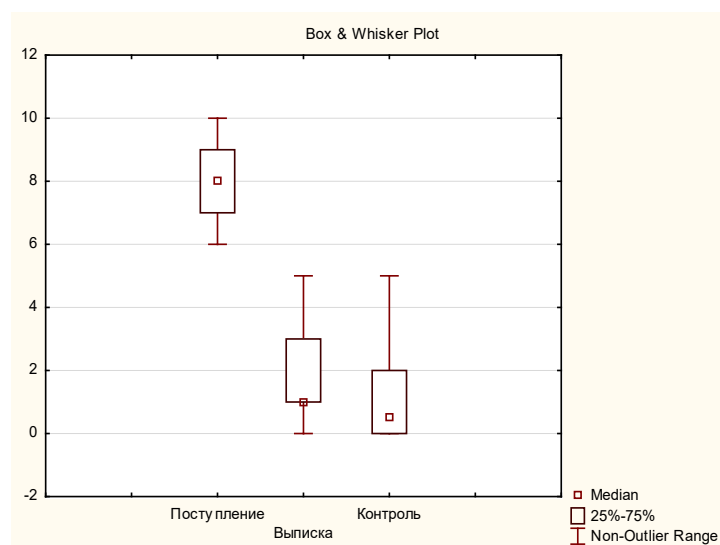


Рисунок 3 – Динамика болевого синдрома по шкале ВАШ у пациентов с неспецифическим гнойно-воспалительным заболеванием позвоночника.

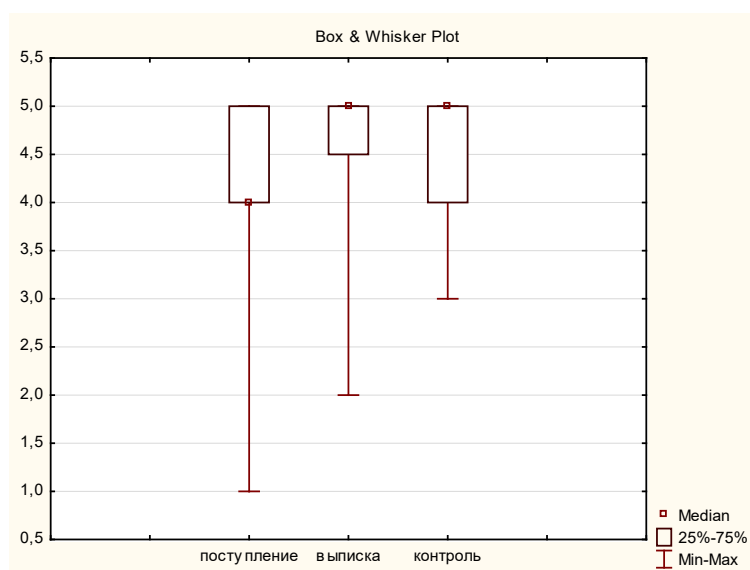


Рисунок 4 – Динамика неврологического статуса (Frankel) у пациентов с неспецифическим гнойно-воспалительным заболеванием позвоночника.

врологического дефицита – Frankel_m E (табл. 2, 3, рис. 4).

Количество пациентов с нижней параплегией (Frankel A, B) при поступлении составило 6 человек. При выписке из стационара нижняя параплегия присутствовала в 1 случае, а при контрольной госпитализации пациентов с данным типом неврологического дефицита выявлено не было. Однако в группе Frankel_m B было 2 летальных исхода ввиду крайне тяжелого септического течения болезни, а 1 пациент без регресса неврологического дефицита на момент выписки на контрольную госпитализацию не явился.

Также наблюдалось уменьшение пациентов с парезом нижних конечностей (Frankel_m C, D) с 18 при поступлении до 10 при выписке и 9 при контрольной госпитализации ($P_{\text{Wilcoxon}} < 0,001$)

У 10 пациентов из групп Frankel C, D и E оценку неврологического статуса через 1-2 месяца произвести не удалось ввиду их отказа от контрольной госпитализации. Однако у всех 10 пациентов при выписке наблюдался либо переход в более высокий класс Frankel_m (4 пациента), либо они оставались без ухудшения состояния в классе Frankel_m E (6 пациентов).

Внедрение алгоритма лечения пациентов с НГЗП позволило снизить время пребывания пациента в стационаре. Так, средний койко-день у пациентов ретроспективной группы составил $55,18 \pm 7,64$ суток, а в проспективной – $38,50 \pm 2,90$ суток ($p=0,028$).

При сравнении результатов лечения пациентов с НГЗП до и после внедрения алгоритма установлено, что повторный курс стационарного лечения в ретроспективной группе потребовался 8 пациентам (25,9%), а в проспективной группе – 2 пациентам (4,3%), что было статистически достоверно ниже ($p=0,049$).

Расчет экономической эффективности алгоритма лечения пациентов с НГЗП.

1. Предотвращенный экономический ущерб за счет сокращения длительности госпитализаций.

Среднегодовое число пациентов с НГЗП в Витебской области = 46 человек / 27 месяцев x 12 месяцев = 20 человек.

Разница среднего койко – дня в двух группах: $55,18$ суток – $38,5$ суток = $16,68$ суток.

$118,79$ BYN стоимость 1 койко-дня в торакальном гнойном хирургическом отделении.

$16,68$ суток x 20 человек x $118,79$ BYN = $39628,34$ BYN/чел./сут.

2. Предотвращенный экономический ущерб

за счет сокращения временной нетрудоспособности за период стационарного лечения:

$981,6$ BYN – средняя зарплата за январь 2019 года в Республике Беларусь.

$[981,6 \text{ BYN} \times 12 \text{ мес.} : 365 \text{ дней} \times 0,8] \times 16,68 \text{ суток} = 672,86 \text{ BYN}$

3. Предотвращенный экономический ущерб за счет снижения производительности труда, недопроизведенной продукции и национального дохода (ВВП – $121\,568,0$ млн. BYN (2018 год), занято в экономике 4337900 человек).

ВВП на занятого в экономике на 1 день = $121\,568,0 \text{ млн. BYN} : 4337900 \text{ человек} : 365 \text{ дней} = 76,78 \text{ BYN/человека/день}$

$76,78 \text{ BYN/человека/день} \times 16,68 \text{ дней} = 1280,69 \text{ BYN}$

4. Общий среднегодовой экономический эффект на 20 пациентов:

$39628,34 \text{ BYN} + 1280,69 \text{ BYN} + 672,86 \text{ BYN} = 41581,89 \text{ BYN}$

Таким образом, внедрение разработанного алгоритма лечения пациентов с НГЗП позволяет добиться ощутимого уменьшения болевого синдрома и регресса неврологического дефицита, а также снизить количество рецидивов заболевания и повторных госпитализаций, что, в свою очередь, снижает затраты на лечение.

Предложенный систематизированный подход к диагностике и лечению пациентов с НГЗП обеспечивает ее раннюю выявляемость и своевременное адекватное лечение, что согласуется с результатами мировых исследований [1, 4, 6].

Заключение

1. При оценке динамики болевого синдрома выявлено прогрессивное статистически значимое ($P_{\text{Wilcoxon}} < 0,001$) снижение интенсивности боли по шкале ВАШ у пациентов с НГЗП при поступлении (8 [7-9]), выписке (1,5 [1-3]) и контрольном обследовании (0 [0-2]).

2. Отмечен статистически значимый регресс неврологического дефицита у пациентов с НГЗП ($P_{\text{Wilcoxon}} < 0,001$), с переходом 100% выживших и оцененных в динамике пациентов из класса Frankel_m A, 100% – из Frankel_m B, 100% из Frankel_m C и 78,5% из класса Frankel_m D в более высокие классы.

3. Внедрение разработанного алгоритма лечения пациентов с НГЗП позволило снизить количество повторных госпитализаций пациентов с 25,9% до 4,3% ($p=0,049$), уменьшить сред-

ний койко-день с $55,18 \pm 7,64$ до $38,50 \pm 2,90$ суток ($p=0,028$) и позволило снизить затраты на лечение на 41581,89 BYN/год.

Литература

1. Гончаров, М. Ю. Оценка эволюции неврологических нарушений как признака эффективности лечения у пациентов с неспецифическими гнойными заболеваниями позвоночника / М. Ю. Гончаров, В. П. Сакович // Саратов. науч.-мед. журн. - 2012. - Т. 8, № 2. - С. 420-424.
2. Гончаров, М. Ю. Синдром системного воспалительного ответа в хирургическом лечении неспецифических гнойных заболеваний позвоночника / М. Ю. Гончаров, В. П. Сакович, Е. Ю. Левчик // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. - 2012. - № 4. - С. 39-42.
3. Обзор клинических рекомендаций Американского общества по инфекционным болезням (IDSA) по диагностике и лечению спондилитов у взрослых / И. А. Карпов [и др.] // Клин. микробиология и антимикроб. химиотерапия. - 2017. - Т. 19, № 3. - С. 181-198.
4. Гнойная нейрохирургия : рук. для врачей / А. П. Фраерман [и др.] ; ред. А. П. Фраерман. - Н. Новгород : Поволжье, 2016. - 128 с.
5. Отдаленные результаты консервативного лечения остеомиелита позвоночника / И. П. Ардашев [и др.] // Вестн. новых мед. технологий. - 2014. - Т. 2, № 3. - С. 108-111.
6. Спондилосцит: ранняя диагностика и тактика лечения / И. Ф. Хафизова [и др.] // Казан. мед. журн. - 2016. - Т. 97, № 6. - С. 988-993.
7. Medicaid status is associated with higher surgical site infection rates after spine surgery / M. W. Manoso [et al.] // Spine (Phila Pa 1976). - 2014 Sep. - Vol. 39, N 20. - P.

1707-1713.

8. Виссарионов, С. В. Международные стандарты классификации травмы спинного мозга (шкала ASIA/ISNCSCI, пересмотр 2015 года) / С. В. Виссарионов, А. Г. Баиндурашвили, И. А. Крюкова // Ортопедия, травматология и восстанов. хирургия дет. возраста. - 2016. - Т. 4, № 2. - С. 67-72.
9. International standards for neurological classification of spinal cord injury / S. C. Kirshblum [et al.] // J. Spinal Cord Med. - 2011 Nov. - Vol. 34, N 6. - P. 535-546.
10. Roberts, T. T. Classifications In Brief: American Spinal Injury Association (ASIA) Impairment Scale / T. T. Roberts, G. R. Leonard, D. J. Cepela // Clin. Orthop. Relat. Res. - 2017 May. - Vol. 475, N 5. - P. 1499-1504.
11. Current Diagnosis and Treatment of Spondylodiscitis / R. Sobottke [et al.] // Dtsch. Arztebl. Int. - 2008 Mar. - Vol. 105, N 10. - P. 181-187.
12. Vertebral osteomyelitis: A comparison of associated outcomes in early versus delayed surgical treatment / F. A. Sergeto [et al.] // Int. J. Spine Surg. - 2018 Dec. - Vol. 12, N 6. - P. 703-712.
13. Хирургическое лечение осложненных форм неспецифических спондилосцитов / В. И. Петухов [и др.] // Хирургия. Восточ. Европа. - 2018. - Т. 7, № 4. - С. 426-435.
14. Kubrakov, K. M. Vacuum therapy application in surgical treatment of spinal epidural abscesses / K. M. Kubrakov, V. I. Petukhov, A. V. Kornilov // Новости хирургии. - 2019. - Т. 27, № 1. - P. 59-65.
15. Шахрай, С. В. Оценка экономической эффективности работы Минского городского центра амбулаторной и малоинвазивной хирургии / С. В. Шахрай, А. Ю. Соколов, М. Ю. Гаин // Новости хирургии. - 2011. - Т. 19, № 6. - С. 76-81.

Поступила 29.05.2019 г.

Принята в печать 27.09.2019 г.

References

1. Goncharov MYu, Sakovich VP. Assessment of the evolution of neurological disorders as a sign of treatment effectiveness in patients with non-specific purulent spinal diseases. Sarat Nauch-med Zhurn. 2012;8(2):420-4. (In Russ.)
2. Goncharov MYu, Levchik EYu. Systemic inflammatory response syndrome in the surgical treatment of non-specific purulent spinal diseases. Biul VSNTs SO RAMN. 2012;(4):39-42. (In Russ.)
3. Karpov IA, Gorbich YuL, Solovey NV, Raznitsyna OT. Overview of the Clinical Recommendations of the American Society for Infectious Diseases (IDSA) for the diagnosis and treatment of adult spondylitis. Klin Mikrobiologiya Antimikrob Khimioterapiia. 2017;19(3):181-98. (In Russ.)
4. Fraerman AP, Perl'mutter OA, Shakhov AV, Parfenov VE, Shulev YuA, Orlov VP; Fraerman AP, red. Purulent Neurosurgery: ruk dlia vrachei. Nizhny Novgorod, RF: Povolzh'e; 2016. 128 p. (In Russ.)
5. Ardashev IP, Gatin VR, Ardasheva EI, Starikov TN, Noskov VP. Long-term results of conservative treatment of osteomyelitis of the spine. Vestn Novykh Med Tekhnologii. 2014;2(3):108-11. (In Russ.)
6. Khafizova IF, Popova NA, Panyukhov AG, Gumerov FR.

Spondylodiscitis: early diagnosis and treatment tactics. Kazan Med Zhurn. 2016;97(6):988-93. (In Russ.)

7. Manoso MW, Cizik AM, Bransford RJ, Bellabarba C, Chapman J, Lee MJ. Medicaid status is associated with higher surgical site infection rates after spine surgery. Spine (Phila Pa 1976). 2014 Sep;39(20):1707-13. doi: 10.1097/BRS.0000000000000496
8. Vissarionov SV, Baindurashvili AG, Kryukova IA. International Classification Standards for Spinal Cord Injury (ASIA / ISNCSCI Scale, 2015 Revision). Ortopediia Travmatologiya Vosstanov Khirurgiya Det Vozrasta. 2016;4(2):67-72. (In Russ.)
9. Kirshblum SC, Burns SP, Biering-Sorensen F, Donovan W, Graves DE, J, et al. International standards for neurological classification of spinal cord injury. J Spinal Cord Med. 2011 Nov;34(6):535-46. doi: 10.1179/204577211X13207446293695
10. Roberts TT, Leonard GR, Cepela DJ. Classifications In Brief: American Spinal Injury Association (ASIA) Impairment Scale. Clin Orthop Relat Res. 2017 May;475(5):1499-1504. doi: 10.1007/s11999-016-5133-4
11. Sobottke R, Seifert H, Fätkenheuer G, Schmidt M, Gossmann A, Eysel P. Current Diagnosis and Treatment of Spondylodiscitis. Dtsch Arztebl Int. 2008 Mar;105(10):181-

7. doi: 10.3238/arztebl.2008.0181
12. Segreto FA, Beyer GA, Grieco P, Horn SR, Bortz CA, Jalai CM, et al. Vertebral osteomyelitis: A comparison of associated outcomes in early versus delayed surgical treatment. *Int J Spine Surg.* 2018 Dec 21;12(6):703-712. doi: 10.14444/5088
13. Petukhov VI, Semenov VM, Kornilov AV, Kubrakov KM. Surgical treatment of complicated forms of nonspecific spondylodiscitis. *Khirurgiia Vostochno Evropa.* 2018;7(4):426-35. (In Russ.)
14. Kubrakov KM, Petukhov VI, Kornilov AV. Vacuum therapy application in surgical treatment of spinal epidural abscesses. *Novosti Khirurgii.* 2019;27(1):59-65.
15. Shakhrai SV, Sokolov AY, Gain MY. Evaluation of the economic efficiency of the Minsk city center of outpatient and minimally invasive surgery. *Novosti Khirurgii.* 2011;19(6):76-81. (In Russ.)

Submitted 29.05.2019

Accepted 27.09.2019

Сведения об авторах:

Петухов В.И. – д.м.н., доцент, заведующий кафедрой хирургии ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4042-3978>;

Кубраков К.М. – к.м.н., доцент кафедры неврологии и нейрохирургии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6723-0589>;

Корнилов А.В. – аспирант кафедры хирургии ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8709-6639>;

Кунцевич М.В. – аспирант кафедры госпитальной хирургии с курсами урологии и детской хирургии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8122-6655>.

Information about authors:

Petukhov V.I. – Doctor of Medical Sciences, associate professor, head of the Chair of Surgery of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4042-3978>;

Kubrakov K.M. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Neurology & Neurosurgery, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6723-0589>;

Kornilov A.V. – postgraduate of the Chair of Surgery of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8709-6639>;

Kuncevicz M.V. – postgraduate of the Chair of Hospital Surgery with the courses of Urology & Pediatric Surgery, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8122-6655>.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра неврологии и нейрохирургии. E-mail: k-kubrakov@yandex.ru – Кубраков Константин Михайлович.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Neurology & Neurosurgery. E-mail: k-kubrakov@yandex.ru – Konstantin M. Kubrakov.

ЗНАЧИМОСТЬ СОДЕРЖАНИЯ ДНК В СОСТАВЕ МИКРОБНОЙ БИОПЛЕНКИ В ПАТОГЕНЕЗЕ ТЯЖЕЛЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ИНФЕКЦИЙ И МОДЕЛИРОВАНИИ ИСХОДА ЗАБОЛЕВАНИЯ

ЗЕМКО В.Ю.¹, ОКУЛИЧ В.К.¹, ДЗЯДЗЬКО А.М.², КОЛЧАНОВА Н.Э.¹, КОРНИЛОВ А.В.¹, СЕНЬКОВИЧ С.А.¹

¹Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

²Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии, г. Минск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2019. – Том 18, №5. – С. 69-76.

THE ROLE OF DNA CONTENT IN THE COMPOSITION OF MICROBIAL BIOFILM IN THE PATHOGENESIS OF SEVERE RESPIRATORY INFECTIONS AND THE DISEASE OUTCOME MODELLING

ZIAMKO V.Y.¹, OKULICH V.K.¹, DZYADZKO A.M.², KOLCHANOVA N.E.¹, KORNILOV A.V.¹, SENKOVICH S.A.¹

¹Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

²Minsk Scientific and Practical Center of Surgery, Transplantation and Hematology, Minsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2019;18(5):69-76.

Резюме.

Цель – разработать способ определения процентного содержания дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) в составе биопленки и установить его значимость в патогенезе тяжелых респираторных инфекций и моделировании исхода заболевания.

Материал и методы. Изучено 238 изолятов, выделенных из мокроты и зева 175 пациентов из Витебской областной клинической больницы и амбулаторно-поликлинических учреждений в течение 2016-2019 гг. Пациенты были разделены на две группы: в 1-ой группе из 139 человек (79,4%) пациенты имели тяжелые респираторные инфекции, во 2-ой группе из 36 человек (20,6%) – инфекции дыхательных путей средней степени тяжести.

Результаты и обсуждение. Разработан способ определения процентного содержания ДНК в составе микробного сообщества с использованием в качестве флуорохрома раствора красителя 4'6-диамидино-2-фенилиндола дигидрохлорид. Средний возраст 1-ой группы был выше второй ($p < 0,05$). Наибольшую массу образуемой биопленки, а также процентное содержание ДНК имела *P. aeruginosa*, выделенная при тяжелых респираторных инфекциях в ОРИТ, составив 48,25 [30,5-70,1] мкг/мл и 5,21 [2,17-7,67] %, $p = 0,04$. Выявлена сильная связь между процентным содержанием ДНК в биопленке *P. aeruginosa* и степенью тяжести заболевания $r = 0,73$, слабая – при *Acinetobacter spp.*, $r = 0,35$, $p < 0,05$. Частота неблагоприятного исхода при выделении антибиотикостойчивых изолятов была выше, чем при выделении антибиотикочувствительных ($p < 0,05$). Анализ результатов позволил предположить летальный исход с высокой степенью вероятности при массе микробной биопленки $> 47,5$ мкг/лунку и процентном содержании ДНК в ее составе $> 2,33\%$ ($p < 0,01$).

Заключение. Предложен способ определения процентного содержания ДНК в составе микробного сообщества, позволяющий судить об агрессивности микроорганизма и тяжести вызываемой им инфекции, что дает возможность обеспечить персонализированный подход к выбору антибактериальной терапии на основе способности лекарственного средства проникать через биопленку.

Ключевые слова: антибиотикорезистентность, биопленка, дезоксирибонуклеиновая кислота, 4'6-диамидино-2-фенилиндол дигидрохлорид.

Abstract.

Objectives. To develop a method for determining deoxyribonucleic acid (DNA) percentage in the biofilm composition

and to ascertain its significance in the pathogenesis of severe respiratory infections and their outcome modelling.

Material and methods. A total of 238 isolates taken from the sputum and pharynx of 175 patients treated at Vitebsk Regional Clinical Hospital and outpatient clinics during 2016-2019 were studied. Patients were divided into two groups: the 1st group consisting of 139 people (79.4%) had severe respiratory infections, the 2nd group composed of 36 persons (20.6%) suffered from respiratory infections of moderate severity.

Results. The method for determining DNA percentage in the composition of microbial community using 4'-diamidino-2-phenylindole dihydrochloride was developed. The average age of the 1st group was higher than that of the second group ($p < 0.05$). *P. aeruginosa* had the largest mass of the biofilm formed and DNA percentage in group 1, making up 48.25 [30.5-70.1] $\mu\text{g/ml}$ and 5.21 [2.17-7.67] %, $p = 0.04$. A strong relationship was found between DNA percentage in *P. aeruginosa* biofilm and the disease severity, $r = 0.73$, and a weak one – in *Acinetobacter spp.*, $r = 0.35$, $p < 0.05$. The incidence of adverse outcomes in case of antibiotic-resistant isolates was higher than that in case of antibiotic-sensitive ones ($p < 0.05$). The analysis of the results made it possible to prognosticate to a high degree probability fatal outcome when the microbial biofilm mass was $> 47.5 \mu\text{g/well}$ and DNA percentage was $> 2.33\%$, ($p < 0.01$).

Conclusions. The method for determining DNA percentage in the microbial community has been proposed allowing to judge the aggressiveness of the microorganism and the severity of the infection caused by it, which enables the providing of a personalized approach to the choice of antibiotic therapy based on the ability of the drug to penetrate through the biofilm.

Key words: antibiotic resistance, biofilm, deoxyribonucleic acid, 4'-diamidino-2-phenylindole dihydrochloride.

Давно известно о возможности существования микроорганизмов в специфических многослойных структурах, называемых биопленками (БП), что, в свою очередь, объясняет тяжелое течение многих воспалительных процессов [1]. В регуляции свойств биопленок активное участие принимает внеклеточная дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) матрикса биопленки, присутствие которой необходимо для нормального образования биопленок. Так, в биопленках перенос генетической информации, в том числе генов, отвечающих за чувствительность к антибактериальным лекарственным средствам, происходит гораздо чаще, чем в отдельно живущих бактериальных клетках [2, 3]. Однако, несмотря на участие внеклеточной ДНК в адгезивных процессах и межклеточных взаимодействиях, ее роль полностью не изучена [4, 5].

Существующие в настоящее время способы определения ДНК не адаптированы для изучения биопленки и достаточно трудоемки в исполнении [6, 7]. Предлагаемый нами метод определения процентного содержания ДНК в составе микробной биопленки основан на определении количества ДНК в биологическом образце путем флуоресценции с использованием в качестве флуорохрома раствора красителя 4'-диамидино-2-фенилиндол дигидрохлорид (DAPI). Определение процентного содержания ДНК в биопленке позволяет судить об агрессивности микроорганизма и тяжести вызываемой им инфекции, что, в свою очередь, позволяет обеспечить персонализированный подход к выбору антибактериальной

терапии на основе способности лекарственного средства проникать через биопленку [8, 9].

Цель исследования – разработать способ определения процентного содержания ДНК в составе микробной биопленки и установить его значимость в патогенезе тяжелых респираторных инфекций и моделировании исхода заболевания.

Материал и методы

Изучено 238 изолятов, выделенных из мокроты и зева 175 пациентов в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), пульмонологического и отоларингологического отделений УЗ «Витебская областная клиническая больница» в течение 2016-2019, а также из амбулаторно-поликлинических учреждений г. Витебск. Забор материала производили утром до приема пищи в стерильные емкости для сбора биологического материала и отправляли в микробиологическую лабораторию Республиканского научно-практического центра «Инфекция в хирургии» на базе Витебской областной клинической больницы, где проводили идентификацию микроорганизмов согласно инструкции по применению № 075-0210 «Микробиологические методы исследования биологического материала», утвержденной Министерством здравоохранения Республики Беларусь 13.03.2010 г. [10]. Факультативно-аэробные и аэробные микроорганизмы идентифицировали с использованием тест-систем на автоматизированном биохимическом анализаторе АТВ Expression фирмы «bioMerieux». Принад-

лежность стафилококков к MRSA определяли по резистентности к цефокситину [11].

Пациенты были разделены на две группы в зависимости от тяжести течения заболевания: в 1-ой группе из 139 человек (79,4%) пациенты имели тяжелую полисегментарную или нижне-долевую пневмонию и находились на лечении в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ). Во 2-ой группе из 36 человек (20,6%) пациенты имели инфекции дыхательных путей средней степени тяжести и находились на лечении в пульмонологическом и отоларингологическом отделениях, а также в амбулаторно-поликлинических учреждениях. Во 2-ой группе 10 человек (5,7%) имели внегоспитальную пневмонию средней степени тяжести, по 6 человек (3,4%) – тонзиллит и фарингит, 2 (1,14%) человека – ринофарингит, 4 (2,3%) – хроническую обструктивную болезнь легких, по 1 пациенту (0,6%) – бронхит, полисинусит и острое респираторное заболевание, 3 человека (1,7%) находились на обследовании.

Для обработки данных применяли непараметрические методы статистики. Статистическую значимость между несвязанными группами оценивали по критерию Манна-Уитни. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха. Связь между двумя количественными признаками оценивалась с помощью корреляционного анализа Спирмена. Для оценки диагностической и прогностической эффективности метода использовали ROC-анализ. Определение вероятности наступления неблагоприятного исхода исследовали на основе расчета отношения шансов с 95% доверительным интервалом. Точный критерий Фишера использовали для сравнения двух относительных показателей, характеризующих частоту определенного признака, имеющего два значения. Значения достоверны при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

По видовому составу из мокроты и зева преобладали *Klebsiella pneumoniae* (102 изолята), *Acinetobacter spp.* (60 изолятов), *Pseudomonas aeruginosa* (54 изолята); *Staphylococcus aureus* составил 22 изолята ($p < 0,05$).

Средний возраст 1-ой группы пациентов составил $55,7 \pm 22,9$ года, мужчины составили – 71 человек, женщины – 28 человек. Средний возраст 2-ой группы пациентов был $33,8 \pm 25,6$ года,

мужчины составили – 33 человека, женщины – 62 человека ($p < 0,05$).

Исследуемые группы пациентов различались чувствительностью к антибактериальным лекарственным средствам выделяемых из биологических сред микроорганизмов. Так, все стафилококки принадлежали к MRSA в первой группе и были чувствительны к цефокситину во второй в 100% случаев ($p < 0,05$). В первой группе пациентов выделяемая *K. pneumoniae* была резистентна к карбапенемам, цефалоспорином и фторхинолонам, во второй – чувствительна к вышеперечисленным группам антибактериальных препаратов ($p < 0,05$). Синегнойная палочка была чувствительной к ципрофлоксацину, цефалоспорином и карбапенемам только во второй группе, проявив умеренную устойчивость в 23% случаев ($p < 0,05$). В обеих группах *P. aeruginosa* была чувствительной к тигециклину и колистину ($p > 0,05$). В свою очередь, *Acinetobacter spp.* был чувствителен к тигециклину и сульбактаму в 100% случаев, проявив резистентность к карбапенемам, фторхинолонам и цефалоспорином в исследуемых группах ($p > 0,05$).

В ходе проведенного исследования определяли массу формируемой биопленки с использованием в качестве красителя генцианвиолет по ранее описанной методике [12] и процентное содержание ДНК в составе биопленки по предложенной нами методике. Предлагаемый нами метод определения процентного содержания ДНК в составе микробной биопленки основан на определении количества ДНК в биологическом образце путем флуоресценции с использованием в качестве флуорохрома раствора красителя DAPI. Получена приоритетная справка о положительном результате предварительной экспертизы по заявке на выдачу патента на изобретение «Способ определения процентного содержания ДНК в составе микробной биопленки» от 06.08.2018 № а20180266 [13].

Для проведения вышеописанного способа формировали биопленку в полистироловом планшете и определяли концентрацию ДНК в ее составе [12]. Для этого из суточной культуры микроорганизмов, выращенной на мясо-пептонном агаре, готовили взвесь на бульоне Мюллера-Хинтона с оптической плотностью 0,5 единицы ($1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл). По 150 мкл полученной взвеси микроорганизмов вносили в лунки плоскодонного планшета. Отрицательным контролем были лунки, содержащие по 150 мкл бульона Мюллера-Хинтона.

Планшет герметично закрывали и инкубировали в термостате при 37°C в течение 48 часов в капнофильных условиях. Для того чтобы максимально очистить био пленку, ее четырехкратно промывали дистиллированной водой с помощью автоматической мойки (150 мкл дистиллированной воды на одну лунку на один цикл). В лунки добавляли по 160 мкл 2,5% раствора глутаральдегида для фиксации био пленки, через 5 минут вновь промывая дистиллированной водой по вышеописанному методу. Для того чтобы окрасить ДНК в составе био пленки в лунки вносили по 180 мкл раствора флуоресцентного красителя DAPI в концентрации 4 мкг/мл, вновь промывая дистиллированной водой через 10 минут и после высушивая в течение 10 минут. Добавлением по 200 мкл 96% раствора этилового спирта экстрагировали краситель в лунки. Через 15 минут содержимое всех лунок собирали стерильным наконечником и разводили в 8 раз дистиллированной водой. Для определения уровня флуоресценции полученный раствор, содержащий био пленку, помещали в кварцевую кювету и измеряли на флуориметре при λ_{ex} 358 нм и λ_{em} 461 нм интенсивность флуоресценции, возникающую при облучении ультрафиолетовыми лучами полученного раствора.

После построения калибровочного графика, который отражал зависимость концентрации ДНК от интенсивности флуоресценции, возникающей при облучении ультрафиолетовыми лучами (рис. 1), была получена формула для расчета концентрации ДНК в био пленке (мкг/мл):

$$\text{ДНК} = 0,44 + 5,93 \cdot E,$$

где:

ДНК – концентрация ДНК в составе био-

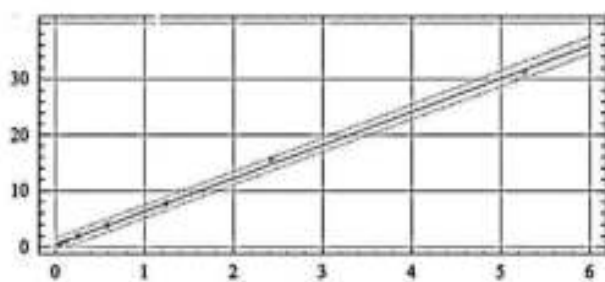


Рисунок 1 – Калибровочный график зависимости концентрации ДНК от интенсивности флуоресценции, возникающей при облучении ультрафиолетовыми лучами: на оси абсцисс показаны значения интенсивности флуоресценции раствора, а на оси ординат – значения концентрации ДНК в мкг/мл.

пленки в мкг/мл;

E – интенсивность флуоресценции полученного раствора.

Исходя из процентного содержания ДНК в био пленке и массы био пленки в лунке, рассчитывали процентное содержание ДНК в био пленке по формуле:

$$\% \text{ ДНК} = \text{ДНК} / m \cdot 100\%;$$

где:

% ДНК – процентное содержание ДНК в био пленке;

ДНК – концентрация ДНК в составе био пленки, мкг/мл;

m – масса био пленки в одной лунке, мкг [12].

Предложенный способ позволяет определить процентное содержание ДНК в био пленке, что дает возможность обеспечить персонализированный подход к выбору антибактериальной терапии. С использованием предложенного нами способа были определены вес микробной био пленки и процентное содержание ДНК в ней у 238 изолятов, выделенных из мокроты и зева пациентов с респираторными инфекциями средней и тяжелой степени тяжести. Полученные результаты массы микробной био пленки и процентного содержания ДНК в ней исследуемых групп пациентов представлены в таблице 1.

Микроорганизмы, выделяемые при тяжелых респираторных инфекциях у пациентов, находящихся на лечении в ОРИТ, отличались устойчивостью к большинству используемых препаратов и имели больший вес образуемой ими микробной био пленки и процентное содержание ДНК в ней. Микроорганизмы, выделяемые при респираторных инфекциях средней степени тяжести, наоборот, отличались сохранением чувствительности к используемым лекарственным средствам. Из исследованных микроорганизмов наибольшую массу образуемой био пленки, а также процентное содержание ДНК в ее составе имела *P. aeruginosa*, выделенная при тяжелых респираторных инфекциях в ОРИТ, составив 48,25 [30,5-70,1] мкг/мл и 5,21 [2,17-7,67] %, соответственно, $p=0,04$. Масса био пленки, образуемая *P. aeruginosa*, и процентное содержание ДНК в ней были значимо выше массы био пленки и содержания ДНК в ней у *Acinetobacter spp.* ($p=0,01$ и $p=0,03$). Масса микробной био пленки и содержание ДНК среди остальных микроорганизмов, выделяемых при тяжелых респираторных инфекциях внутри группы, статистически значимо не различались, как и масса микробной био пленки

Таблица 1 – Масса микробной биопленки и процентное содержание ДНК в ней у пациентов с респираторными инфекциями средней и тяжелой степени тяжести

Микроорганизм	1-ая группа пациентов		2-ая группа пациентов		Достоверность результатов	
	Масса БП, мкг/мл Me LQ-UQ n=183	% ДНК, Me LQ-UQ n=87	Масса БП, Me LQ-UQ n=55	% ДНК, Me LQ-UQ n=60	Масса БП	% ДНК
<i>P. aeruginosa</i>	48,25 30,1-70,2	5,21 2,17-7,67	29,43 20,3-53,7	0,00 0,00-0,00	p=0,00	p=0,00
<i>Acinetobacter spp.</i>	46,87 36,8-65,3	2,59 1,85-4,53	32,39 19,62-40,66	0,86 0,3-3,55	p=0,03	p=0,048
<i>K. pneumoniae</i>	41,0 31,79-64,94	3,75 2,99-4,86	19,0 4,84-74,32	1,9 1,59-4,69	p=0,02	p=0,048
<i>S. aureus</i>	47,5 35,37-70,98	2,05 1,94-2,16	25,7 15,56-29,35	1,32 0,71-1,59	p=0,01	p=0,04

Таблица 2 – Распределение пациентов на умерших и выживших в зависимости от антибиотикочувствительности выделяемых изолятов

Группы выделенных изолятов	Количество пациентов	
	Умерли	Выжили
Изоляты, выделенные из 1-ой группы пациентов	77	60
Изоляты, выделенные из 2-ой группы пациентов	0	182

и количество ДНК среди микроорганизмов, выделяемых при инфекциях средней степени тяжести. Выявлена сильная связь между процентным содержанием ДНК в микробной биопленке *P. aeruginosa* и степенью тяжести заболевания $r=0,73$ $p<0,05$, слабая связь – при *Acinetobacter spp.* $r=0,35$, $p<0,05$. Между степенью тяжести заболевания и процентным содержанием ДНК в микробной биопленке, образуемой *K. pneumoniae* и *S. aureus*, статистически значимой корреляции обнаружено не было ($p>0,05$).

При изучении влияния антибиотикочувствительности выделяемых из патологического очага изолятов на показатель летальности использовался точный критерий Фишера. Пациенты были распределены на группы следующим образом (табл. 2).

Учитывая, что $p<0,01$ делаем вывод о наличии прямой взаимосвязи между резистентностью выделяемого изолята к антибактериальным препаратам и вероятностью летального исхода. Частота неблагоприятного исхода при выделении антибиотикоустойчивых изолятов статистически значимо выше, чем при выделении антибиотикочувствительных. При изучении влияния выделяемого вида микроорганизма на показатель

летальности последний при выделении грамотрицательных микроорганизмов был значимо выше, чем при выделении грамположительных микроорганизмов. Летальность не отличалась при выделении *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae* ($p=0,29$), однако риск неблагоприятного исхода возрастал при сравнении с *Acinetobacter spp.* ($p<0,01$ и $p<0,01$).

Было выдвинуто предположение: чем выше процентное содержание ДНК в составе микробной биопленки микроорганизма, тем более патогенный микроорганизм, имеющий больший вес микробной биопленки, что в свою очередь препятствует доступности антибактериальных препаратов, требует замены на лекарственные средства, способные проникать через биопленку, а также ухудшает прогноз развития заболевания и повышает летальность.

Анализ результатов с применением ROC-анализа позволил предложить летальный исход заболевания с высокой степенью вероятности при массе микробной биопленки более 47,5 мкг/лунку и процентном содержании ДНК в составе биопленки более 2,33% ($p<0,01$).

ROC-анализ полученных данных представлен в таблице 3 и на рисунках 2 и 3.

Таблица 3 – ROC-анализ данных, полученных при исследовании массы биопленки и процентного содержания ДНК в них для оценки прогноза выживаемости

Оцениваемый показатель	Д	ДС, %	ДЧ, %	Площадь под кривой	p
Масса БП, мкг/лунку	>47,5	100	91,6	0,98	0,00
Процентное содержание ДНК в БП, %	>2,33	98,2	86,4	0,96	0,00

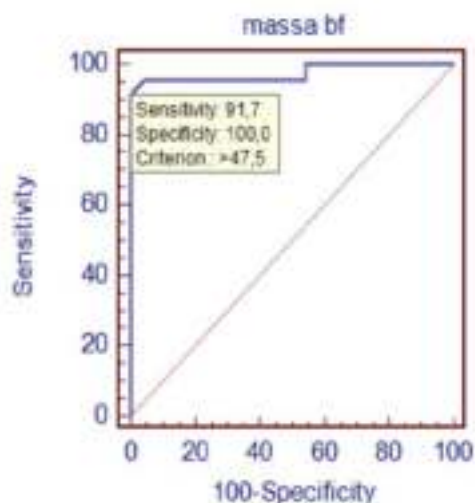


Рисунок 2 – ROC-анализ данных массы биопленки для оценки прогноза выживаемости.

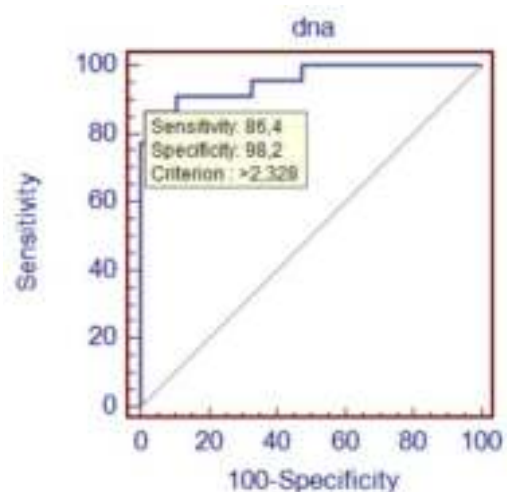


Рисунок 3 – ROC-анализ данных процентного содержания ДНК в составе биопленки для оценки прогноза выживаемости.

Исследование показало, что шансы летального исхода в 348,3 раза выше при уровне процентного содержания ДНК в составе микробной биопленки более 2,33%, чем в группе выживших пациентов при процентном содержании ДНК, равном или менее 2,33% и в 506 раз выше при уровне массы микробной биопленки 47,5 мкг/лунку, чем в группе выживших пациентов при массе микробной биопленки менее 47,5 мкг/лунку (95% ДИ 34,15 – 3553,53 и 95% ДИ 27,77 – 3553,53).

Заключение

Разработан способ определения процентного содержания ДНК в составе микробного сообщества с использованием в качестве флуорохрома раствора красителя 4'6-диамидино-2-фенилиндол дигидрохлорид, позволяющий судить об агрессивности микроорганизма и тяжести вызываемой им инфекции, что дает возможность обеспечить персонализированный подход к выбору антибактериальной терапии на основе способности лекарственного средства проникать через биопленку.

Средний возраст лиц, заболевших тяжелыми формами респираторных инфекций, вызванных антибиотикоустойчивыми микроорга-

низмами, был статистически больше группы с заболеваниями средней степени тяжести, вызванными микроорганизмами, чувствительными к антибактериальной терапии ($p < 0,05$). Частота неблагоприятного исхода при выделении *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae* ($p = 0,29$) не различалась, однако риск неблагоприятного исхода возрастал при сравнении с *Acinetobacter* spp. ($p < 0,01$ и $p < 0,01$) и *S. aureus* ($p < 0,01$).

Микроорганизмы, формирующие биопленку и отличающиеся большим количеством жизнеспособных бактерий в ней, более патогенны и способны инициировать тяжелый воспалительный процесс. При массе микробной биопленки более 47,5 мкг/лунку и процентном содержании ДНК в составе биопленки более 2,33% вероятность летального исхода заболевания увеличивается в 506 и 348,3 раза соответственно ($p < 0,01$).

Работа выполнена в рамках темы НИР «Системная воспалительная реакция при тяжелой бактериальной пневмонии: молекулярно-генетические механизмы патогенеза и их прогностическая роль в оценке эффективности антибактериальной терапии», договор с БРФФИ № M19M-028 от 02.05.2019.

The investigation was conducted within the frames of the scientific research work theme «Systemic inflammatory reaction in severe bacterial pneumonia: molecular-genetic mechanisms of the pathogenesis and their prognostic role in the evaluation of the antibiotic therapy efficacy», agreement with Belarusian Republican Fund of Fundamental Research № M19M-028 dated 02.05.2019

Литература

1. Лямин, А. В. Методы выявления биопленок в медицине: возможности и перспективы / А. В. Лямин, Е. А. Боткин, А. В. Жестков // Клин. микробиология и антимикроб. химиотерапия. – 2012. – Т. 14, № 1. – С. 17–22.
2. Тец, В. В. Микробные биопленки и проблемы антибиотикотерапии / В. В. Тец, Г. В. Тец // Практ. пульмонология. – 2013. – № 4. – С. 60–64.
3. Антибиотикорезистентность биопленочных бактерий / И. В. Чеботарь [и др.] // Клин. микробиология и антимикроб. химиотерапия. – 2012. – Т. 14, № 1. – С. 51–58.
4. Role of extracellular DNA in initial bacterial adhesion and surface aggregation / T. Das, [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. – 2010 May. – Vol. 76, N 10. – P. 3405–3408.
5. Statistical assessment of a laboratory method for growing biofilms / D. M. Goeres [et al.] // Microbiology. – 2005 Mar. – Vol. 151, pt. 3. – P. 757–762.
6. Ormerod, M. G. Consensus report of the task force on standardisation of DNA flow cytometry in clinical pathology

References

1. Lyamin AV, Botkin EA, Zhestkov AV. Methods for identifying biofilms in medicine: opportunities and prospects. Klin Mikrobiologiya Antimikrob Khimioterapiia. 2012;14(1):17–22. (In Russ.)
2. Tets VV, Tets GV. Microbial biofilms and problems of antibiotic therapy. Prakt Pul'monologiya. 2013;(4):60–4. (In Russ.)
3. Chebotar' IV, Mayanskiy AN, Konchakova ED, Lazareva AV, Chistyakova VP. Antibiotic resistance of biofilm bacteria. Klin Mikrobiologiya Antimikrob Khimioterapiia. 2012;14(1):51–8. (In Russ.)
4. Das T, Sharma PK, Busscher HJ, van der Mei HC, Krom BP. Role of extracellular DNA in initial bacterial adhesion and surface aggregation. Appl Environ Microbiol. 2010 May;76(10):3405–8. doi: 10.1128/AEM.03119-09
5. Goeres DM, Loetterle LR, Hamilton MA, Murga R, Kirby DW, Donlan RM. Statistical assessment of a laboratory method for growing biofilms. Microbiology. 2005 Mar;151(Pt 3):757–62. doi: 10.1099/mic.0.27709-0
6. Ormerod MG, Tribukait B, Giarretti W. Consensus report of the task force on standardisation of DNA flow cytometry in clinical pathology. Anal Cell Pathol. 1998;17(2):103–10.
7. Sackoet M, Delacotte N, Bah M, Conti M, inventors; No voste Corporation, assignee. Method for assaying nucleic

- / M. G. Ormerod, B. Tribukait, W. Giarretti // Anal. Cell. Pathol. – 1998. – Vol. 17, N 2. – P. 103–110.
7. Method for assaying nucleic acids by fluorescence : patent GOIN 21164, C12Q 1/68 / M. Sackoet, N. Delacotte, M. Bah, M. Conti. – № WO 2008017948 A2 ; applicated 10.08.07 ; published 14.02.08.
8. Smith, R. A. Antibiotic Resistance: a primer and call to action / R. A. Smith, N. M. M'ikanatha, A. F. Read // Health Commun. – 2015. – Vol. 30, N 3. – P. 309–314.
9. Antibiotic resistance of bacterial biofilms / N. Hoiby [et al.] // Int. J. Antimicrob. Agents. – 2010 Apr. – Vol. 35, N 4. – P. 322–332.
10. Микробиологические методы исследования биологического материала : инструкция по применению № 075-0210 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 13 марта 2010 г. – Минск, 2010. – 75 с.
11. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 9.0, valid from 2019-01-01 [Electronic resource]. – Mode of access: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/. – Date of access: 08.10.2019.
12. Окулич, В. К. Микробные биопленки в клинической микробиологии и антибактериальной терапии / В. К. Окулич, А. А. Кабанова, Ф. В. Плотноков. – Витебск : ВГМУ, 2017. – 300 с.
13. Способ определения процентного содержания ДНК в составе микробной биопленки : пат. Респ. Беларусь, МКП С 12Q 1/04 / Окулич В. К., Колчанова Н. Э., Корнилов А. В., Земко В. Ю. ; заявитель и патентообладатель Витеб. гос. мед. ун-т. – № а 20180266 ; заявл. 18.06.18 ; опубл. 06.08.2018.

Поступила 28.06.2019 г.

Принята в печать 27.09.2019 г.

- acids by fluorescence. WO patent 2008017948 A2, GOIN 21164, C12Q 1/68. 2008 Feb 14.
8. Smith RA, M'ikanatha NM, Read AF. Antibiotic Resistance: a primer and call to action. Health Commun. 2015;30(3):309–14. doi: 10.1080/10410236.2014.943634
9. Hoiby N, Bjarnsholt T, Givskov M, Molin S, Ciofu O. Antibiotic resistance of bacterial biofilms. Int J Antimicrob Agents. 2010 Apr;35(4):322–32. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2009.12.011
10. Microbiological methods for the study of biological material: instruktсия po primeneniiu № 075-0210: utv M-vom zdravookhraneniia Resp Belarus' 13 marta 2010 g. Minsk, RB; 2010. 75 p. (In Russ.)
11. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 9.0, valid from 2019-01-01. Available from: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/. [Accessed 08th Oct 2019].
12. Okulich VK, Kabanova AA, Plotnikov FV. Microbial biofilms in clinical microbiology and antibiotic therapy. Vitebsk, RB: VGMU; 2017. 300 p. (In Russ.)
13. Okulich VK, Kolchanova NE, Kornilov AV, Zemko VYu; zaiavitel' i patentoobladatel' Viteb gos med un-t. The method for determining the percentage of DNA in the composition of the microbial biofilm: pat Resp Belarus', MKP S 12Q 1/04. № а 20180266; zaiavl 18.06.18; opubl 06.08.2018. (In Russ.)

Submitted 28.06.2019

Accepted 27.09.2019

Сведения об авторах:

Земко В.Ю. – аспирант кафедры анестезиологии и реаниматологии с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6753-2074>;

Окулич В.К. – к.м.н., доцент кафедры клинической микробиологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8226-6405>;

Дзядзько А.М. – д.м.н., заведующий отделом анестезиологии и реанимации, Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1965-1850>;

Колчанова Н.Э. – к.м.н., доцент кафедры терапевтической стоматологии с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный медицинский университет;

Корнилов А.В. – аспирант кафедры хирургии ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8709-6639>;

Сенькович С.А. – к.м.н., доцент кафедры клинической микробиологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

Information about authors:

Ziamko V.Y. – postgraduate of the Chair of Anesthesiology and Resuscitation with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6753-2074>;

Okulich V.K. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Clinical Microbiology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8226-6405>;

Dzyadzko A.M. – Doctor of Medical Sciences, head of the Department of Anesthesiology and Resuscitation, Minsk Scientific and Practical Center of Surgery, Transplantation and Hematology,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1965-1850>;

Kolchanova N.E. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Restorative Dentistry with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Kornilov A.V. – postgraduate of the Chair of Surgery of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8709-6639>;

Senkovich S.A. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Clinical Microbiology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра анестезиологии и реаниматологии с курсом ФПК и ПК. E-mail: torinet@tut.by – Земко Виктория Юрьевна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Anesthesiology and Resuscitation with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining. E-mail: torinet@tut.by – Vikoriya Y. Ziamko.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ СЫВОРОТКИ КРОВИ, ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ И ФЕРРИТИНА ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ

ВОЛКОВА М.В.¹, КУНДЕР Е.В.¹, ГЕНЕРАЛОВ И.И.², СЕНЬКОВИЧ С.А.², КУНДЕР В.И.³

¹Белорусская медицинская академия последипломного образования, г. Минск, Республика Беларусь

²Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

³Лицей Белорусского государственного университета, г. Минск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2019. – Том 18, №5. – С. 77-83.

CLINICAL VALUE OF BLOOD SERUM ENZYMATIC ACTIVITY, PROINFLAMMATORY CYTOKINES AND FERRITIN IN RHEUMATOID ARTHRITIS

VOLKAVA M.V.¹, KUNDZER E.V.¹, GENERALOV I.I.², SENKOVICH S.A.², KUNDZER V.I.³

¹Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education, Minsk, Republic of Belarus

²Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

³Lyceum of Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2019;18(5):77-83.

Резюме.

Использование широкого спектра биомаркеров лежит в основе разработки персонализированного подхода к диагностике и лечению ревматоидного артрита (РА). Целью работы стало исследование уровней ферментативной активности сыворотки крови, провоспалительных цитокинов, ферритина при РА и установление их клинического значения.

В исследование включено 128 пациентов с достоверным диагнозом РА согласно критериям EULAR/ACR 2010, а также 33 здоровых добровольца. Определены уровни ДНКазной и гиалуронидазной активности сыворотки крови, фактора некроза опухоли альфа (ФНО-α), интерлейкина-6 (ИЛ-6), интерлейкина 17А (ИЛ-17А), ферритина.

Ферментативная активность сыворотки крови, уровни ИЛ-6, ИЛ-17А и ферритина у пациентов с РА были значительно выше, чем в контрольной группе ($p < 0,05$). Уровень ФНО-α у пациентов с РА не превышал контрольных значений. Проведено сопоставление уровней ферментативной активности сыворотки, провоспалительных цитокинов и ферритина с клиническими, лабораторными и инструментальными характеристиками РА. В результате обнаружен ряд взаимосвязей, которые указывают на возможности использования изучаемых показателей в качестве биомаркеров при РА.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, ДНКазная активность сыворотки, гиалуронидазная активность сыворотки, цитокины, ферритин.

Abstract.

The use of a wide range of biomarkers underlies the development of a personalized approach to the diagnosis and treatment of rheumatoid arthritis (RA). The aim of the work was to study the levels of enzymatic activity of blood serum, proinflammatory cytokines, ferritin in RA and to determine their clinical value.

The study included 128 patients with a reliable diagnosis of RA according to the criteria of EULAR / ACR 2010, as well as 33 healthy volunteers. The levels of DNase and hyaluronidase activity of blood serum, tumor necrosis factor alpha (TNF-α), interleukin -6 (IL-6), interleukin 17A (IL-17A), ferritin were determined.

Blood serum enzymatic activity, IL-6, IL-17A and ferritin levels in RA patients were significantly higher than those in the control group ($p < 0.05$). TNF-α level in RA patients did not exceed the control values. The levels of serum enzymatic activity, proinflammatory cytokines and ferritin were compared with clinical, laboratory and instrumental characteristics

of RA, as a result, a number of relationships were found that indicate the possibility of using the studied parameters as biomarkers in RA.

Key words: rheumatoid arthritis, DNase serum activity, hyaluronidase serum activity, cytokines, ferritin.

Ревматоидный артрит (РА) является хроническим воспалительным заболеванием, характеризующимся припухлостью, болезненностью и деструкцией синовиальных суставов, которое приводит к тяжелой нетрудоспособности и преждевременной смертности [1]. РА также характеризуется выработкой аутоантител (антитела к цитруллинированным пептидам, ревматоидный фактор), гиперплазией и воспалением синовиальной оболочки, а также системными проявлениями (легочными, сердечно-сосудистыми, психологическими, скелетными и др.). Хроническое воспаление и костные эрозии являются центральными характеристиками РА [2]. РА встречается примерно у 0,5–1% взрослого населения [3].

Использование широкого спектра биомаркеров лежит в основе разработки персонализированного подхода к диагностике и лечению РА. В качестве молекулярных биомаркеров выступают различные биохимические показатели, такие как уровни нуклеиновых кислот, белков, липидов, углеводов, метаболитов и других биомолекул в крови, синовиальной жидкости и других биологических жидкостях и тканях. Объективное, количественное измерение молекулярных биомаркеров с использованием различных методов служит индикатором нормального или патологического процесса, или индикатором ответа на лечение.

Потенциал исследования ферментативной активности сыворотки крови при РА остается окончательно нераскрытым. Ранее нами было установлено наличие высоких уровней активности при раннем РА [4]. Другими исследователями [5] установлено, что ДНКаза 1, главный фермент, отвечающий за деградацию ДНК, снижена при РА и обратно коррелирует с уровнем СОЭ и нейтрофилов.

На роль молекулярных биомаркеров при РА претендуют различные цитокины. При РА сложная цитокиновая сеть регулирует хроническое воспаление и деструкцию суставов [6, 7]. Хроническое воспаление при РА обусловлено дисбалансом между цитокинами про- и противовоспалительного действия и индукцией аутоиммунитета [8, 9]. ФНО- α , секретируемый

активированными макрофагами и Т-клетками, оказывает провоспалительное действие посредством связывания с одним из его рецепторов, p55 (ФНО-PI) или p75 (ФНО-PII), и играет жизненно важную роль в продукции других цитокинов и индукции хронического воспаления [10]. Интерлейкин-6 (ИЛ-6) представляет собой плеiotропный цитокин с различными физиологическими эффектами, включая регуляцию воспалительных процессов, метаболизм костной ткани и иммунный ответ. Повышенная экспрессия ИЛ-6 может способствовать системному воспалительному процессу и стимуляции продукции цитокинов [11]. Данные предыдущих исследований свидетельствуют о том, что ФНО- α и ИЛ-6 играют значительную роль в возникновении и развитии РА вследствие их провоспалительных эффектов [12].

Интерлейкин-17 (ИЛ-17) был открыт в недавнее время и является важным медиатором воспаления и повреждения суставов при РА [13].

Ферритин является биохимическим маркером и отражает обмен железа в организме, его уровень повышается при хроническом воспалении. При развитии анемии хронического заболевания показатели ферритина сыворотки крови могут быть нормальными или повышенными из-за удержания железа ретикулоэндотелиальной системой [14].

Целью работы стало исследование уровней ферментативной активности сыворотки крови, провоспалительных цитокинов, ферритина при РА и установление их клинического значения.

Материал и методы

Исследование носит поперечный наблюдательный сплошной характер и основано на сборе сведений и заборе венозной крови во время визита у ревматолога или в период госпитализации в ревматологическое отделение.

В исследование включено 128 пациентов (110 женщин (85,93%), 18 (14,07%) мужчин) с достоверным диагнозом РА согласно критериям EULAR/ACR 2010 [1].

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием пациентов, проводились в

соответствии с этическими стандартами Хельсинкской декларации. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом учреждения здравоохранения «1-я городская клиническая больница г. Минска». Все пациенты, включенные в исследование, подписали информированное согласие. Общая характеристика пациентов приведена в таблице 1.

Контрольной группой послужили 33 здоровых добровольца, сопоставимых по полу и возрасту с исследуемой группой.

Для определения ДНКазной и гиалуронидазной активности сыворотки крови использовался метод риванолового сгустка [15, 16].

Уровни антител к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП) оценивали методом иммуноферментного анализа (ИФА) согласно инструкциям производителя тест-систем фирмы Euroimmun (Германия).

Уровни ревматоидного фактора (РФ) оценивали методом кинетической нефелометрии на автоматическом анализаторе Beckman Coulter (USA). Наличие антинуклеарных антител (АНА) определяли методом непрямой иммунофлюоресценции (НИФ) согласно инструкциям производи-

теля тест-систем фирмы Euroimmun (Германия), а также с использованием автоматизированной системы учета непрямой иммунофлюоресценции AKLIDES с использованием соответствующих реагентов фирмы Medipan (Германия).

Для определения уровней фактора некроза опухоли альфа, интерлейкина 6 использовали тест-системы для ИФА «Вектор-Бест», Россия, для определения интерлейкина 17А – тест-системы Invitrogen, Германия в соответствии с инструкциями. Уровни ферритина определяли методом ИФА с использованием тест-систем ХОП «ИБОХ», Беларусь.

Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью программного обеспечения Statistica 7.0 (StatSoft, США) и Medcalc 12.5.0.0 (США), включая общепринятые методы параметрического и непараметрического анализа. Для определения различий между переменными, распределение которых не соответствовало нормальному распределению, использовался критерий Манна-Уитни. Различия считались значимыми при $p < 0,05$. При проведении корреляционного анализа использовался метод ранговой корреляции Спирмена.

Таблица 1 – Характеристика пациентов с ревматоидным артритом

Показатель	Все пациенты
Пол, n (%) женщин	110 (85,93)
Возраст, годы*	54,12±13,85
Длительность заболевания, месяцы*	48,00 (95%ДИ: 31,32-75,69)
Рентгенологическая стадия РА, n (%)	
I	16 (12,50%)
II	68 (53,13%)
III	38 (29,69%)
IV	6 (4,68%)
Системные проявления, n (%)	35 (27,34%)
DAS 28*	4,56 (95%ДИ: 4,34-5,06)
SDAI*	19,90 (95%ДИ: 17,80-23,00)
CDAI*	21,95 (95%ДИ: 20,040-25,517)
РФ-позитивные, n (%)	88 (68,75%)
РФ-негативные, n (%)	40 (31,25%)
АЦЦП-позитивные, n (%)	96 (75,00%)
АЦЦП-негативные, n (%)	32 (25,00%)
Предшествующая терапия синтетическими базисными противовоспалительными лекарственными средствами	
Без базисной терапии	16 (12,50)
Метотрексат	85 (66,41%)
Доза метотрексата, мг/нед	15,00 (95%ДИ:12,50-15,00)
Сульфасалазин	12 (9,38%)
Лефлуномид	9 (7,03%)
Комбинированная терапия	6 (4,68%)
Пероральный прием ГК в дозе 4-8 мг/сутки, n (%)	69 (53,91%)

Результаты и обсуждение

Уровни провоспалительных цитокинов, ДНКазной и гиалуронидазной активности сыворотки крови, ферритина представлены в таблице 2. АНА определены у 104 пациентов, положительный уровень АНА обнаружен у 38 (36,53%) пациентов.

Ферментативная активность сыворотки крови у пациентов с РА была значимо выше, чем в контрольной группе. Установленные различия между уровнями ДНКазной активности сыворотки у обследованных пациентов и у здоровых лиц могут свидетельствовать о ее патогенетической роли в развитии и поддержании воспалительного процесса при РА и предполагают возможность рассматривать данный вид активности как компонент общего механизма воспалительного ответа, что согласуется с данными других исследований [17]. Ранее нами установлен факт повышения ДНКазной сывороточной активности уже на ранних стадиях заболевания РА, что также подтверждает участие компонентов сыворотки, обладающих нуклеазными свойствами, в патогенезе данного заболевания [5]. В данном исследовании ДНКазная активность была обратно взаимосвязана с наличием РФ ($r=-0,253$, $p=0,022$) и системных проявлений ($r=-0,216$, $p=0,045$), что может указывать на ее возможную протективную роль. Компенсаторное повышение нуклеазной сывороточной активности может быть обусловлено необходимостью клиренса избыточного количества ДНК, высвобождающегося при цитолизе в рамках иммунного воспаления. Вероятно, ДНКазная активность сыворотки снижает

антигенную нагрузку и выработку аутоантител и уменьшает напряженность воспалительного процесса, что проявляется в меньшей частоте системных проявлений.

Повышение гиалуронидазной активности при РА может быть связано с активным воспалением, которое приводит к деградации суставного хряща с образованием эрозий. Кроме того, при деградации гиалуроновой кислоты усиливается проницаемость сосудов и скопление жидкости в тканях, что может усиливать выраженность синовита, обусловленного воспалением. В данном исследовании гиалуронидазная активность сыворотки крови коррелировала с наличием у пациентов АЦЦП ($r=0,266$, $p=0,026$). Известно, что наличие АЦЦП ассоциируется с более тяжелым деструктивным артритом [18]. Исходя из этого уровень гиалуронидазной активности сыворотки может быть потенциальным биомаркером суставной деструкции при РА.

Отсутствие значимого повышения уровня ФНО- α при РА не позволяет рассматривать этот показатель в качестве потенциального клинического биомаркера. В то же время изучение уровней ИЛ-6 и ИЛ-17А представляется перспективным с клинической точки зрения. При РА уровни этих цитокинов были значимо выше по сравнению с контрольной группой. Уровень ИЛ-6 был взаимосвязан с уровнем СРБ ($r=0,264$, $p=0,032$), а также рентгенологической стадией заболевания ($r=0,256$, $p=0,031$), что, с одной стороны, подтверждает патогенетическую роль этого цитокина в продукции белков острой фазы воспаления и суставной деструкции, с другой – позволяет рассматривать его как дополнительный показатель

Таблица 2 – Уровни провоспалительных цитокинов, ДНКазной и гиалуронидазной активности сыворотки крови, ферритина у обследованных лиц

Параметр	Пациенты с РА	Контрольная группа	Значимость различий
ФНО α , пг/мл	0,00; 0,00-1,34	0,00; 0,00-0,00	$p>0,05$
ИЛ-6, пк/мл	6,63; 2,99-16,52	0,11; 0,00-0,70	$p<0,0001$
ИЛ-17А, пк/мл	0,00; 0,00-4,67	0,00; 0,00-0,00	$p=0,0094$
ДНКазная сывороточная активность	3,00; 2,50-3,00	0,00; 0,00-1,00	$p<0,0001$
Гиалуронидазная сывороточная активность	3,00; 3,00-3,00	0,00; 0,00-1,00	$p<0,0001$
Ферритин	117,81; 71,89-198,97	41,16; 17,38-160,65	$p=0,029$

активности воспалительного процесса.

Уровень ИЛ-17А был взаимосвязан с рентгенологической стадией ($r=0,287$, $p=0,022$), наличием и уровнем РФ ($r=0,362$, $p=0,005$ и $r=0,409$, $p=0,004$ соответственно), системными проявлениями заболевания ($r=0,260$, $p=0,038$), что указывает на системное действие этого цитокина при РА.

Учитывая потенциал использования антицитокиновой терапии при РА, пациенты с повышенным базовым уровнем цитокинов могут рассматриваться как кандидаты для использования биологических лекарственных средств, направленных на данный цитокин. Однако в настоящее время проведены лишь небольшие исследования в этой области [19-20], в клинических испытаниях при включении и стратификации пациентов базовый уровень цитокинов пока не учитывается, что не позволяет оценить их прогностическую ценность.

Несмотря на доступность определения ферритина в клинической практике, его диагностическое значение при РА пока исследовано не в полной мере. Оценка уровня ферритина при РА используется для дифференциальной диагностики железо-дефицитной анемии и анемии хронического воспаления [14]. В нашем исследовании уровень ферритина коррелировал с возрастом начала заболевания ($r=0,312$, $p=0,01$), уровнем СРБ ($r=0,353$, $p=0,004$), с наличием и уровнем АНА ($r=0,604$, $p=0,01$ и $r=0,606$, $p=0,01$ соответственно), уровнем РФ ($r=0,313$, $p=0,023$). Ассоциации уровня ферритина с уровнями РФ и СРБ были установлены ранее Seyhan S и соавторами, при системной красной волчанке также установлена корреляция уровня ферритина с АНА и антителам к двухспиральной ДНК [21]. Взаимосвязи между уровнем ферритина и уровнями АНА и РФ указывают на его участие в патогенезе заболевания и требуют дальнейшего изучения, а взаимосвязь уровня ферритина и СРБ позволяет использовать его в качестве биомаркера активности воспалительного процесса.

Таким образом, в данной работе проведено сопоставление уровней ферментативной активности сыворотки, провоспалительных цитокинов и ферритина с клиническими, лабораторными и инструментальными характеристиками РА. В результате обнаружен ряд взаимосвязей, которые указывают на возможности использования изучаемых показателей в качестве биомаркеров при РА.

Заключение

Повышенные уровни ДНКазной и гиалуронидазной активности сыворотки крови, а также установленные ассоциации между ДНКазной активностью и отсутствием РФ, а также системных проявлений, гиалуронидазной активности и наличием АЦЦП, позволяют расценивать ферментативную активность сыворотки крови в качестве биомаркера активности воспалительного процесса при РА.

Целесообразно определение уровня ИЛ-6, ИЛ-17 А и ферритина, так как установлено их повышение при РА и наличие взаимосвязей с клиническими и лабораторными показателями. Прогностическая ценность этих показателей требует дальнейшего изучения.

Литература

1. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative / D. Aletaha [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2010 Sep. – Vol. 62, N 9. – P. 2569–2581.
2. McInnes, I. B. The pathogenesis of rheumatoid arthritis / I. B. McInnes, G. Schett // *N. Engl. J. Med.* – 2011 Dec. – Vol. 365, N 23. – P. 2205–2219.
3. Schett, G. Bone erosion in rheumatoid arthritis: mechanisms, diagnosis and treatment / G. Schett, E. Gravallesse // *Nat. Rev. Rheumatol.* – 2012 Nov. – Vol. 8, N 11. – P. 656–664.
4. Choy, E. Understanding the dynamics: pathways involved in the pathogenesis of rheumatoid arthritis / E. Choy // *Rheumatology (Oxford)*. – 2012 Jul. – Vol. 51, suppl. 5. – P. v3–v11.
5. Волкова, М. В. Критерии дифференциальной диагностики ранних артритов на основе оценки сывороточной гиалуронидазной и дезоксирибонуклеазной активности / М. В. Волкова, Е. В. Кундер // *Клин. лаб. диагностика*. – 2012. – № 10. – С. 22–26.
6. Correlation of DNase I in serum and synovial fluid with inflammatory activity in patients with rheumatoid arthritis / X. Y. Xu [et al.] // *Nan. Fang. Yi. Ke. Da. Xue. Xue. Bao.* – 2016 Aug. – Vol. 36, N 9. – P. 1204–1208.
7. Cytokine mRNA profiling identifies B cells as a major source of RANKL in rheumatoid arthritis / L. Yeo [et al.] // *Ann. Rheum. Dis.* – 2011 Nov. – Vol. 70, N 11. – P. 2022–2028.
8. Regulation of TNF-alpha with a focus on rheumatoid arthritis / E. A. Moelants [et al.] // *Immunol. Cell. Biol.* – 2013 Jul. – Vol. 91, N 6. – P. 393–401.
9. TNF-alpha gene silencing using polymerized siRNA/thiolated glycol chitosan nanoparticles for rheumatoid arthritis / S. J. Lee [et al.] // *Mol. Ther.* – 2014 Feb. – Vol. 22, N 2. – P. 397–408.
10. Boissier, M. C. Cell and cytokine imbalances in rheumatoid synovitis / M. C. Boissier // *Joint Bone Spine.* – 2011 May. – Vol. 78, N 3. – P. 230–234.
11. Nishimoto, N. Interleukin 6: from bench to bedside / N.

- Nishimoto, T. Kishimoto // Nat. Clin. Pract. Rheumatol. – 2006 Nov. – Vol. 2, N 11. – P. 619–626.
12. Inflammatory cytokines, endothelial markers and adhesion molecules in rheumatoid arthritis: effect of intensive anti-inflammatory treatment / W. Foster [et al.] // J. Thromb. Thrombolysis. – 2010 May. – Vol. 29, N 4. – P. 437–442.
13. Enhanced and persistent levels of interleukin (IL)-17(+) CD4(+) T cells and serum IL-17 in patients with early inflammatory arthritis / N. J. Gullick [et al.] // Clin. Exp. Immunol. – 2013 Nov. – Vol. 174, N 2. – P. 292–301.
14. Serum prohepcidin and other iron metabolism parameters in elderly patients with anemia of chronic disease and with iron deficiency anemia / J. Przybyszewska [et al.] // Pol. Arch. Med. Wewn. – 2013. – Vol. 123, N 3. – P. 105–111.
15. Способ определения ДНКазной активности : пат. 1066 Респ. Беларусь : МПК С 12 Q 1/34, С 12 N 9/22 / Азаренок К. С., Генералов И. И., Голубева А. Г., Железняк Н. В., Конорев М. Р. ; заявитель и патентообладатель Витеб. мед. ин-т. – № 243А ; заявл. 06.04.93 ; опубл. 14.03.96.
16. Азаренок, К. С. Определение гиалуронидазной активности методом риванолового сгустка / К. С. Азаренок, И. И. Генералов // Клини. лаб. диагностика. – 1994. – № 5. – С. 40–42.
17. Nagata, S. Rheumatoid polyarthritis caused by a defect in DNA degradation / S. Nagata // Cytokine Growth Factor Rev. – 2008 Jun-Aug. – Vol. 19, N 3/4. – P. 295–302.
18. Autoantibodies to citrullinated proteins in rheumatoid arthritis: clinical performance and biochemical aspects of an RA-specific marker / S. Nijenhuis [et al.] // Clin. Chim. Acta. – 2004 Dec. – Vol. 350, N 1/2. – P. 17–34.
19. Serum interleukin 6 before and after therapy with tocilizumab is a principal biomarker in patients with rheumatoid arthritis / K. Shimamoto [et al.] // J. Rheumatol. – 2013 Jul. – Vol. 40, N 7. – P. 1074–1081.
20. The combination of IL-6 and its soluble receptor is associated with the response of rheumatoid arthritis patients to tocilizumab / C. Diaz-Torne [et al.] // Semin. Arthritis Rheum. – 2018 Jun. – Vol. 47, N 6. – P. 757–764.
21. The correlation between ferritin level and acute phase parameters in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus / S. Seyhan [et al.] // Eur. J. Rheumatol. – 2014 Sep. – Vol. 1, N 3. – P. 92–95.

Поступила 06.09.2019 г.

Принята в печать 27.09.2019 г.

References

1. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. Arthritis Rheum. 2010 Sep;62(9):2569-81. doi: 10.1002/art.27584
2. McInnes IB, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. N Engl J Med. 2011 Dec;365(23):2205-19. doi: 10.1056/NEJMra1004965
3. Schett G, Gravallese E. Bone erosion in rheumatoid arthritis: mechanisms, diagnosis and treatment. Nat Rev Rheumatol. 2012 Nov;8(11):656-64. doi: 10.1038/nrrheum.2012.153
4. Choy E. Understanding the dynamics: pathways involved in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. Rheumatology (Oxford). 2012 Jul;51 Suppl 5:v3-11. doi: 10.1093/rheumatology/kes113
5. Volkova MV, Kunder EV. Differential criteria for the diagnosis of early arthritis based on the assessment of serum hyaluronidase and deoxyribonuclease activity. Klin Lab Diagnostika. 2012;(10):22-6. (In Russ.)
6. Xu XY, Yang WF, Zhang SG, Zhao Q, Linag LJ, Wang X, Shen HL. Correlation of DNase I in serum and synovial fluid with inflammatory activity in patients with rheumatoid arthritis. Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao. 2016 Aug;36(9):1204-8.
7. Yeo L, Toellner KM, Salmon M, Filer A, Buckley CD, Raza K, et al. Cytokine mRNA profiling identifies B cells as a major source of RANKL in rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis. 2011 Nov;70(11):2022-8. doi: 10.1136/ard.2011.153312
8. Moelants EA, Mortier A, Van Damme J, Proost P. Regulation of TNF-alpha with a focus on rheumatoid arthritis. Immunol Cell Biol. 2013 Jul;91(6):393-401. doi: 10.1038/icb.2013.15
9. Lee SJ, Lee A, Hwang SR, Park JS, Jang J, Huh MS, et al. TNF-alpha gene silencing using polymerized siRNA/thiolated glycol chitosan nanoparticles for rheumatoid arthritis. Mol Ther. 2014 Feb;22(2):397-408. doi: 10.1038/mt.2013.245
10. Boissier MC. Cell and cytokine imbalances in rheumatoid synovitis. Joint Bone Spine. 2011 May;78(3):230-4. doi: 10.1016/j.jbspin.2010.08.017
11. Nishimoto N, Kishimoto T. Interleukin 6: from bench to bedside. Nat Clin Pract Rheumatol. 2006 Nov;2(11):619-26. doi: 10.1038/ncprheum0338
12. Foster W, Carruthers D, Lip GY, Blann AD. Inflammatory cytokines, endothelial markers and adhesion molecules in rheumatoid arthritis: effect of intensive anti-inflammatory treatment. J Thromb Thrombolysis. 2010 May;29(4):437-42. doi: 10.1007/s11239-009-0370-y
13. Gullick NJ, Abozaid HS, Jayaraj DM, Evans HG, Scott DL, Choy EH, et al. Enhanced and persistent levels of interleukin (IL)-17(+) CD4(+) T cells and serum IL-17 in patients with early inflammatory arthritis. Clin Exp Immunol. 2013 Nov;174(2):292-301. doi: 10.1111/cei.12167
14. Przybyszewska J, Żekanowska E, Kędziora-Kornatowska K, Boinska J, Cichon R, Porzych K. Serum prohepcidin and other iron metabolism parameters in elderly patients with anemia of chronic disease and with iron deficiency anemia. Pol Arch Med Wewn. 2013;123(3):105-11.
15. Azarenok KS, Generalov II, Golubeva AG, Zheleznyak NV, Konorev MR; Viteb med in-t, zaiavitel' i patentoobladatel'. Method for determining DNase activity: pat 1066 Resp Belarus: MPK S 12 Q 1/34, S 12 N 9/22. № 243A; zaiavl 06.04.93; opubl 14.03.96. (In Russ.)
16. Azarenok KS, Generalov II. Determination of hyaluronidase activity by the rivanol clot method. Klin Lab Diagnostika. 1994;(5):40-2. (In Russ.)
17. Nagata S. Rheumatoid polyarthritis caused by a defect in DNA degradation. Cytokine Growth Factor Rev. 2008 Jun-

- Aug;19(3-4):295-302. doi: 10.1016/j.cytogfr.2008.04.009
18. Nijenhuis S, Zendman AJ, Vossenaar ER, Pruijn GJ, vanVenrooij WJ. Autoantibodies to citrullinated proteins in rheumatoid arthritis: clinical performance and biochemical aspects of an RA-specific marker. Clin Chim Acta. 2004 Dec;350(1-2):17-34. doi: 10.1016/j.cccn.2004.07.016
 19. Shimamoto K, Ito T, Ozaki Y, Amuro H, Tanaka A, Nishizawa T, et al. Serum interleukin 6 before and after therapy with tocilizumab is a principal biomarker in patients with rheumatoid arthritis. J Rheumatol. 2013 Jul;40(7):1074-81. doi: 10.3899/jrheum.121389
 20. Diaz-Torne C, Ortiz MDA, Moya P, Hernandez MV, Reina D, Castellvi I, et al. The combination of IL-6 and its soluble receptor is associated with the response of rheumatoid arthritis patients to tocilizumab. Semin Arthritis Rheum. 2018 Jun;47(6):757-764. doi: 10.1016/j.semarthrit.2017.10.022
 21. Seyhan S, Pamuk ÖN, Pamuk GE, Çakır N. The correlation between ferritin level and acute phase parameters in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. Eur J Rheumatol. 2014 Sep;1(3):92-95. doi: 10.5152/eurjrheumatol.2014.032

Submitted 06.09.2019

Accepted 27.09.2019

Сведения об авторах:

Волкова М.В. – к.м.н., докторант кафедры кардиологии и ревматологии, Белорусская медицинская академия последипломного образования,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8572-9252>;

Кундер Е.В. – д.м.н., профессор кафедры кардиологии и ревматологии, Белорусская медицинская академия последипломного образования;

Генералов И.И. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой клинической микробиологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Сенькович С.А. – к.м.н., доцент кафедры клинической микробиологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Кундер В.И. – учащийся лицея Белорусского государственного университета.

Information about authors:

Volkava M.V. – Candidate of Medical Sciences, doctoral candidate of the Chair of Cardiology & Rheumatology, Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8572-9252>;

Kundzer E.V. – Doctor of Medical Sciences, professor of the Chair of Cardiology & Rheumatology, Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education;

Generalov I.I. – Doctor of Medical Sciences, professor of the Chair of Clinical Microbiology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Senkovich S.A. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Clinical Microbiology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Kundzer V.I. – student, Lyceum of Belarusian State University.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 220013, г. Минск, пр-т Независимости, 64, Белорусская медицинская академия последипломного образования, кафедра кардиологии и ревматологии. E-mail: margovolkova@gmail.com – Волкова Маргарита Васильевна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 220013, Minsk, 64 Nezavisimosti ave., Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education, Chair of Cardiology & Rheumatology. E-mail: margovolkova@gmail.com – Margaryta V. Volkava.

УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ДИАГНОСТИКА ЛОКАЛЬНЫХ ЖИРОВЫХ ДЕПО У ПАЦИЕНТОВ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ И ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

БОНДАРЕНКО В.М., ПИМАНОВ С.И., МАКАРЕНКО Е.В.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск,
Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2019. – Том 18, №5. – С. 84-98.

ULTRASOUND DIAGNOSING OF LOCAL FAT DEPOSITS IN PATIENTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION AND ISCHEMIC HEART DISEASE

BONDARENKO V.M., PIMANOV S.I., MAKARENKO E.V.

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2019;18(5):84-98.

Резюме.

Цель исследования – ультразвуковая оценка количества висцеральной жировой ткани (ВЖТ) различной локализации у пациентов с артериальной гипертензией (АГ) и ишемической болезнью сердца (ИБС), а также определение граничных величин изученных эхографических показателей.

Материал и методы. Обследован 121 человек, в том числе 34 пациента с АГ, 34 – с ИБС и 53 человека без сердечно-сосудистых заболеваний, которые составили контрольную группу.

Результаты и обсуждение. Пациенты с АГ и ИБС не отличались по возрасту, весу, индексу массы тела и величине окружности талии от обследованных контрольной группы. В то же время при ультразвуковом исследовании получены статистически значимые отличия количества висцеральной жировой ткани (ЖТ).

У пациентов с АГ толщина задней и передней перинефральной ЖТ и площадь нижней части околопочечной ЖТ с обеих сторон существенно превышали аналогичные показатели у обследованных контрольной группы и составили соответственно $11,30 \pm 5,95$ мм ($p=0,014$); $9,21 \pm 5,44$ мм ($p<0,001$); $27,06 \pm 12,68$ см² ($p<0,001$) и $28,05 \pm 14,17$ см² ($p<0,001$). При ИБС толщина эпикардальной, перикардальной ЖТ и их суммарное значение превышали ультразвуковые показатели, полученные в контрольной группе, и равнялась соответственно $4,50 \pm 2,33$ мм ($p<0,001$); $5,17 \pm 3,51$ мм ($p<0,001$) и $9,67 \pm 3,80$ мм ($p<0,001$). Количество интраабдоминальной ВЖТ у пациентов с ИБС и АГ было увеличено в сравнении со здоровыми субъектами. Граничные значения площади нижней части околопочечной ЖТ при АГ составили справа $>18,24$ см² и слева $>22,58$ см². При ИБС пороговыми показателями околосердечной ЖТ являлись: толщина эпикардальной ЖТ $>4,0$ мм и толщина перикардальной ЖТ $>2,7$ мм.

Заключение. Таким образом, у пациентов с АГ увеличено содержание околопочечной, а с ИБС – околосердечной ВЖТ, причем в обеих группах обследуемых количество интраабдоминальной ВЖТ увеличено в сравнении со здоровыми субъектами.

Ключевые слова: ультразвуковое исследование, эпикардальная висцеральная жировая ткань, перикардальная жировая ткань, околопочечная висцеральная жировая ткань, артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца.

Abstract.

Objectives. To assess the amount of visceral adipose tissue (VAT) of various localization in patients with arterial hypertension (AH) and coronary heart disease (CHD), as well as to determine the boundary values of the studied ultrasound parameters. Material and methods. 121 subjects were examined, including 34 patients with AH, 34 – with CHD, and 53 persons without any cardiovascular disease, who made up the control group.

Results. Patients with AH and CHD did not differ in age, weight, body mass index and waist circumference from the examined individuals included in the control group. At the same time, ultrasound revealed statistically significant

differences in the amount of visceral adipose tissue.

In patients with AH, the thickness of the posterior and anterior perinephric VAT and the area of the lower part of the perinephric VAT on both sides significantly exceeded the similar values in the examined control group and amounted, respectively, to 11.30 ± 5.95 mm, ($p=0.014$); 9.21 ± 5.44 mm ($p<0.001$); 27.06 ± 12.68 cm² ($p<0.001$) and 28.05 ± 14.17 cm² ($p<0.001$).

In patients with CHD, the thickness of the epicardial and pericardial VAT as well as their total value exceeded the ultrasound indices obtained in the control group and made up 4.50 ± 2.33 mm, ($p<0.001$); 5.17 ± 3.51 mm ($p<0.001$) and 9.67 ± 3.80 mm ($p<0.001$), respectively.

The amount of intraabdominal VAT in patients with CHD and AH was increased in comparison with healthy subjects.

The boundary values of the lower part of perinephric VAT area in patients with AH were on the right side > 18.24 cm² and on the left side > 22.58 cm². In patients with CHD, the boundary values of pericardial VAT were: the epicardial VAT thickness > 4.0 mm and the pericardial VAT thickness > 2.7 mm.

Conclusions. Thus, in patients with AH, the perinephric VAT amount was increased, and in patients with CHD the pericardial VAT amount was increased, the intraabdominal VAT amount being increased in both groups of the examined subjects compared to healthy individuals.

Key words: ultrasound investigation, epicardial visceral adipose tissue, pericardial visceral adipose tissue, perinephric visceral adipose tissue, arterial hypertension, ischemic heart disease.

В многочисленных исследованиях установлено, что ожирение ассоциировано с факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) и часто сопровождается развитием артериальной гипертензии (АГ), гиперлипидемии, инсулинорезистентности, ишемической болезни сердца (ИБС) и сердечной недостаточности [1, 2].

На протяжении десятилетий индекс массы тела (ИМТ) считался ведущей детерминантой метаболического здоровья. Тем не менее, ожирение является гетерогенным состоянием с различной степенью сердечно-сосудистых и метаболических проявлений [3], при котором индивидуумы с аналогичным ИМТ могут отличаться метаболическими и сердечно-сосудистыми профилями риска. Вероятность возникновения связанных с ожирением сердечно-сосудистых и метаболических осложнений определяется не только общей массой жира, а в значительной степени зависит от индивидуальных особенностей регионального распределения жира и способностью жировой ткани (ЖТ) накапливать липиды [3, 4].

Измерение окружности талии (ОТ) используется в качестве ранней количественной оценки распределения жира в организме и фигурирует в некоторых клинических рекомендациях как косвенный показатель сердечно-сосудистого риска [5]. Однако ОТ отражает как величину подкожной жировой клетчатки (классической неэктопической), так и висцеральной ЖТ (классической эктопической). Тем не менее, оценка величины этих показателей по отдельности представляется актуальной по той причине, что с висцеральным,

а не с подкожным жиром связаны метаболические факторы риска [6].

При наличии периферического ожирения, т.е. подкожном распределении жира, риск осложнений минимальный или отсутствует. В то время как индивидуумы с центральным ожирением, то есть с избыточным количеством висцеральной жировой ткани (ВЖТ), очень склонны к развитию сопутствующих патологических состояний [7].

Появляется все больше данных, свидетельствующих о том, что именно региональные жировые депо играют ключевую роль в развитии ССЗ и метаболических нарушений. Эктопический жир определяется как избыточное количество ЖТ, расположенной за пределами классических отложений жира [8]. Эктопические жировые депо можно подразделить в зависимости от их местоположения и их связи с потенциальными системными или местными эффектами. К эктопическому жиру с преимущественно системными эффектами относят внутрибрюшную ВЖТ, внутрипеченочный и внутримышечный жир. В свою очередь к эктопическим жировым отложениям с потенциальными локальными эффектами относят перикардальную, эпикардальную жировую ткань, жир почечного синуса, стеатоз миокарда и периваскулярный жир [6].

Интенсивно изучаются этнические и расовые различия, касающиеся величины и распределения ВЖТ в связи с тем, что эти факторы могут оказывать влияние на особенности ее накопления и распределения [9].

Исследования эктопических отложений

ЖТ, окружающих органы и кровеносные сосуды, фокусируются на количественном анализе жировых депо и связанных с ними коморбидных патологий. Появление неинвазивных методов диагностики, которые дали возможность количественно определять содержание ЖТ, привело к увеличению числа популяционных исследований, направленных на изучение ассоциации различных жировых депо с системными и локальными проявлениями висцерального ожирения [6].

Несмотря на большое количество исследований, посвященных изучению ВЖТ, количественное определение локальных депо ЖТ в восточноевропейском регионе детально не изучалось. Не определены пороговые значения ВЖТ у пациентов с АГ и ИБС в сравнении со здоровыми обследуемыми.

Целью исследования явилась ультразвуковая оценка количества ВЖТ различной локализации у пациентов с АГ и ИБС, а также определение граничных величин изученных эхографических показателей.

Материал и методы

Обследован 121 человек в возрасте от 23 до 60 лет, 30 женщин и 91 мужчина, в том числе 34 пациента с АГ, 34 – с ИБС и 53 человека без ССЗ, которые составили контрольную группу. Средний возраст участников ($M \pm \sigma$) равнялся $44,75 \pm 8,59$ года.

Исследование было одобрено локальным этическим комитетом при учреждении здравоохранения «Витебская областная клиническая больница». Все обследованные подписали информированное согласие на участие в нем. Анамнестические данные и анализ медицинской документации позволили исключить наличие сопутствующих заболеваний, которые могли бы оказать существенное влияние на массу тела участников исследования и величину жировых депо.

Обследование пациентов заключалось в оценке антропометрических показателей и выполнении ультразвукового исследования (УЗИ) для определения величины ЖТ. Всем участникам исследования измеряли ОТ, рост и вес, рассчитывался ИМТ. В сыворотке крови определяли содержание глюкозы, уровень общего холестерина, холестерина липопротеинов низкой и высокой плотности и триглицеридов. Атеросклеротическое поражение коронарных артерий у пациентов с ИБС было зафиксировано при выполнении ко-

ронарографии в рамках рутинной практики.

УЗИ выполняли на аппаратах «Logiq E9» (фирма «GE Healthcare», США), «ProSound Alpha 7» (фирма «Hitachi-Aloka Medical, Ltd.», Япония), «Aplio 500» (фирма «Toshiba», Япония) с конвексным 3,5 МГц и линейным 7,0 МГц датчиками без специальной подготовки пациентов к исследованию. Соблюдалось необходимое для измерения ЖТ требование – минимальное давление на датчик.

Определение количества ЖТ осуществляли с использованием общепринятых методик, которые были описаны нами ранее [10]. Результаты обследования пациентов с АГ и ИБС сравнивались с показателями, полученными в контрольной группе.

Статистическая обработка полученных результатов была выполнена на персональном компьютере с применением стандартного пакета программ Statistica 10,0 «StatSoft Inc., Okla.», (USA) методами непараметрической статистики с использованием U-теста Манна-Уитни в независимых группах. Оценка соответствия нормальному распределению проводилась с использованием теста Колмогорова-Смирнова. Отличия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. В целях аналогичности и сопоставимости групп пациентов и устранения биологически и антропологически обусловленного неравенства использовался принцип «выравниваемого чередования» [11]. Для определения граничных значений количества ЖТ проводился ROC-анализ (Receiver Operator Characteristic) с использованием программы MedCalc Software (Belgium). При этом градация значений площади под кривой (ППК) соответствовала следующим диапазонам: 0,9-1,0 – отличное качество модели, 0,8-0,9 – очень хорошее качество модели, 0,7-0,8 – хорошее, 0,6-0,7 – среднее и 0,5-0,6 – неудовлетворительное качество модели [12].

Результаты и обсуждение

Все оцененные в ходе исследования параметры представлены в таблице 1.

Пациенты с АГ и ИБС не отличались по возрасту, весу, ИМТ и величине ОТ от обследованных контрольной группы. В то же время при УЗИ получены статистически значимые отличия количества ВЖТ.

У пациентов с АГ отмечено более выраженное накопление околопочечной ЖТ. Толщина задней и передней перинефральной ВЖТ и площадь

Таблица 1 – Антропометрические, биохимические и ультразвуковые показатели у пациентов с артериальной гипертензией и ишемической болезнью сердца

Показатели	Единицы измерения	Группы обследованных		
		Контрольная группа n=53 (M±σ)	Пациенты с АГ n=34 (M±σ)	Пациенты с ИБС n=34 (M±σ)
Возраст	лет	44,75±8,28	44,53±9,90 p ₁ =0,801	44,97±7,86 p ₂ =0,771
Масса тела	кг	83,18±12,42	82,84±10,99 p ₁ =0,896	83,43±12,37 p ₂ =0,811
ИМТ	кг/м ²	27,20±2,85	27,71±2,18 p ₁ =0,214	27,19±3,37 p ₂ =0,841
ОТ	см	93,96±10,16	96,85±7,24 p ₁ =0,124	97,57±9,40 p ₂ =0,100
Уровень общего холестерина	ммоль/л	5,33±0,87	5,95±1,31 p ₁ =0,005	4,84±1,45 p ₂ =0,022
Уровень триглицеридов	ммоль/л	1,19±0,54	1,84±1,10 p ₁ =0,003	2,02±1,42 p ₂ <0,001
Уровень хЛПНП	ммоль/л	3,27±0,74	3,71±1,08 p ₁ =0,033	2,80±0,98 p ₂ =0,011
Уровень хЛПВП	ммоль/л	1,51±0,33	1,35±0,38 p ₁ =0,034	1,16±0,29 p ₂ =0,001
Уровень глюкозы	ммоль/л	5,22±0,68	5,79±0,98 p ₁ =0,010	5,64±1,11 p ₂ =0,171
ПКmin	мм	12,44±4,90	12,34±4,79 p ₁ =0,913	8,25±4,03 p ₂ <0,001
ППmax	мм	14,39±6,32	17,02±6,87 p ₁ =0,032	13,56±4,79 p ₂ =0,767
ПКmax	мм	14,39±6,32	22,64±8,30 p ₁ =0,328	15,13±5,80 p ₂ <0,001
ППmin	мм	5,18±3,09	6,76±8,67 p ₁ =0,473	4,58±3,09 p ₂ =0,343
ТВБЖТ-1	мм	41,10±20,87	56,14±20,65 p ₁ <0,001	64,88±24,68 p ₂ <0,001
ТВБЖТ-2	мм	58,50±21,56	71,17±22,01 p ₁ =0,005	78,44±24,28 p ₂ <0,001
ТВБЖТ-3	мм	63,78±22,96	78,85±21,70 p ₁ =0,002	86,80±25,72 p ₂ <0,001
ТВБЖТ-4	мм	50,73±14,53	56,75±16,30 p ₁ =0,095	60,00±15,82 p ₂ =0,013
ТЗПРЖТ	мм	8,42±4,49	11,30±5,95 p ₁ =0,014	10,89±6,44 p ₂ =0,055
ТППНЖТ	мм	26,67±9,44	30,03±9,28 p ₁ =0,165	29,33±10,06 p ₂ =0,204
ПНОПЖТ справа	см ²	17,87±11,83	27,06±12,68 p ₁ <0,001	29,22±14,56 p ₂ =0,002
ПНОПЖТ слева	см ²	15,97±11,04	28,05±14,17 p ₁ <0,001	25,37±15,75 p ₂ <0,001
ПНОПЖТ среднее	см ²	16,92±11,00	27,39±12,53 p ₁ <0,001	27,30±15,75 p ₂ <0,001
ТППЖТ	мм	5,24±3,89	9,21±5,44 p ₁ <0,001	7,59±5,70 p ₂ =0,077

Продолжение табл. 1

Показатели	Единицы измерения	Группы обследованных		
		Контрольная группа n=53 (M±σ)	Пациенты с АГ n=34 (M±σ)	Пациенты с ИБС n=34 (M±σ)
ТЭЖТ	мм	2,70±1,65	2,98±1,77 p ₁ =0,444	4,50±2,33 p ₂ <0,001
ТПЖТ	мм	3,15±2,64	3,28±2,14 p ₁ =0,384	5,17±3,51 p ₂ =0,001
Сумма ТЭЖТ и ТПЖТ	мм	5,84±3,51	6,27±2,99 p ₁ =0,269	9,67±3,80 p ₂ <0,001
ТПКЖ	мм	16,78±5,99	18,45±7,41 p ₁ =0,343	12,72±4,90 p ₂ =0,001
ТПКЖ-1	мм	16,18±5,81	19,70±12,96 p ₁ =0,144	13,54±9,60 p ₂ =0,003
Толщина интима-медиа справа	мм	0,55±0,15	0,67±0,17 p ₁ <0,001	0,78±0,36 p ₂ <0,001
Толщина интима-медиа слева	мм	0,55±0,16	0,67±0,19 p ₁ =0,002	0,83±0,36 p ₂ <0,001

Примечание: n – количество пациентов в группе; АГ – артериальная гипертензия; ИБС – ишемическая болезнь сердца; ИМТ – индекс массы тела; p₁ – статистический показатель отличий между группой пациентов с АГ и контролем; p₂ – статистический показатель отличий между группой пациентов с ИБС и контролем; xЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности; xЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности; ППmin – минимальная толщина преперитонеальной жировой ткани; ПКmin – минимальная толщина подкожной жировой ткани; ППmax – максимальная толщина преперитонеальной жировой ткани; ПКmax – максимальная толщина подкожной жировой ткани; ТВБЖТ-1 – толщина внутрибрюшной висцеральной жировой ткани до передней стенки аорты; ТВБЖТ-2 – толщина внутрибрюшной висцеральной жировой ткани до задней стенки аорты; ТВБЖТ-3 – толщина внутрибрюшной висцеральной жировой ткани до поясничного позвонка L4; ТВБЖТ-4 – толщина внутрибрюшной висцеральной жировой ткани до селезеночной вены; ТЗПРЖТ – толщина заднего периренального пространства справа; ТППНЖТ – толщина пара- и перинефральной жировой ткани; ПНОПЖТ – площадь нижней части околопочечной жировой ткани; ТППЖТ – толщина передней перинефральной жировой ткани; ТЭЖТ – толщина эпикардиальной жировой ткани; ТПЖТ – толщина перикардиальной жировой ткани; ТПКЖ – толщина подкожной жировой ткани, измеренная на 1 см выше пупка; ТПКЖ-1 – толщина подкожной жировой ткани, измеренная на уровне пупка.

нижней части околопочечной ЖТ существенно превышали аналогичные показатели у обследованных контрольной группы. Величина внутрибрюшной ВЖТ при ее измерении до передней, задней стенки аорты и до поясничного позвонка L4 была значительно больше, чем в контрольной группе. При этом толщина подкожной ЖТ в обеих группах статистически значимо не отличалась.

Установлена ассоциация ожирения с развитием АГ, но в большинстве популяционных исследований, в которых изучалась взаимосвязь между ожирением и АГ, измеряли ИМТ, а не висцеральный (абдоминальный) или забрюшинный жир, которые являются лучшими предикторами повышения артериального давления (АД), чем подкожный жир [13].

Обсервационные исследования показали, что чрезмерное количество периренального жира

увеличивает риск развития АГ и атеросклероза. Периренальный жир непосредственно прилегает к почкам и участвует в обмене веществ и секреции адипокинов, имеет тот же источник развития, что и классический висцеральный жир. Он хорошо васкуляризирован, иннервирован и дренируется в лимфатическую систему [14].

G. De Pergola с соавт. установили наличие положительной корреляции между толщиной пара- и периренального жира и средним значением диастолического АД при 24-часовом мониторинге у пациентов с избыточным весом и ожирением [15]. В другом проведенном в Италии исследовании с участием 284 пациентов, имеющих морбидное ожирение, было показано, что накопление околопочечного жира может способствовать развитию АГ [16].

Механизмы, способствующие нарушению

функции почек и повышению АД при развитии связанной с ожирением АГ, включают механическое сдавление почек жиром, увеличение активности симпатической нервной системы (СНС) и активацию ренин-ангиотензин-альдостероновой системы [13].

Кроме того, на развитие АГ при ожирении оказывают влияние адипокины, которые активно продуцируются в ЖТ, в частности, большое значение придается лептину. Он увеличивает активность СНС в почках. Глюкокортикоиды и/или окислительный стресс также могут способствовать активации минералокортикоидных рецепторов при ожирении. Ожирение и прогрессирующее повреждение почек часто приводят к развитию резистентной к лечению АГ [17]. Другие факторы, связанные с ожирением, такие как эндотелиальная дисфункция и нарушение выделения оксида азота, также избирательно усиливают эффекты лептина на активность СНС и уровень АД [13].

В эксперименте на животных обнаружено, что при ожирении периренальный жир может способствовать развитию эндотелиальной дисфункции почечной артерии, которая частично опосредуется воздействием фактора некроза опухоли- α (ФНО- α) [18].

Ожирение является также неблагоприятным фактором, оказывающим влияние на функцию почек. O. Lamacchia с соавт. показали, что толщина пара- и перинефрального жира является независимым предиктором почечной дисфункции, изменений скорости клубочковой фильтрации, индекса резистентности и уремии у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа [19].

Как было установлено, ожирение приводит к увеличению почечного кровотока в сочетании со снижением почечного сосудистого сопротивления, что вызывает почечную гиперперфузию и гиперфильтрацию. Такие изменения приводят к гломеруломегалии, очаговому сегментарному гломерулосклерозу, тубулоинтерстициальному воспалению и фиброзу, которые характеризуют повреждение почек у пациентов с ожирением и АГ [20].

Несколько проведенных ранее исследований подтверждают связь внутрибрюшной ВЖТ с развитием АГ у пациентов разного возраста [21].

Обследованные нами пациенты с ИБС отличались от здоровых субъектов величиной околосердечных жировых депо (табл. 1). Толщина эпикардиальной, перикардиальной ЖТ и их суммарное значение превышали ультразвуковые показатели, полученные в контрольной группе. Как

и у пациентов с АГ, количество внутрибрюшной ВЖТ было увеличено в сравнении со здоровыми субъектами. Из оцененных показателей величины околопочечной ВЖТ отмечено статистически значимое увеличение площади нижней части околопочечной ЖТ. Возможно, это связано с тем, что у 23 человек помимо ИБС имела место АГ. Примечательно, что толщина подкожной жировой клетчатки у пациентов с ИБС была меньше, чем в контрольной группе.

Полученные ранее данные свидетельствуют о том, что окружающая сердце ЖТ ассоциируется с сердечно-сосудистым риском. В проспективном популяционном исследовании с участием 4093 человек установлено, что объем эпикардиальной ЖТ связан с возможными фатальными и нефатальными коронарными событиями, независимо от традиционных факторов риска ССЗ. При этом удвоение объема эпикардиального жира было связано с 1,5-кратным риском коронарных событий [22].

В метаанализе девяти исследований (из них семь с определением объема эпикардиальной ЖТ и два, в которых оценивали толщину эпикардиальной ЖТ) показано, что увеличение эпикардиального жира было достоверно связано с потенциальным риском развития атеросклеротических бляшек высокого риска в коронарных артериях (отношение шансов: 1,26 [с 95% доверительным интервалом равным 1,11-1,43], $p < 0,001$) [23].

Эпикардиальный жир может влиять на функцию и структуру сердца. Количество эпикардиальной ЖТ коррелирует с массой левого желудочка и нарушенной геометрией правого желудочка. При патологическом ожирении избыток эпикардиального жира способствует увеличению массы левого желудочка. Как было показано, избыточное количество эпикардиального жира ассоциировано с расширением предсердий, нарушением диастолического наполнения правого и левого желудочков и постоянной формой фибрилляции предсердий [24].

Эпикардиальный жир богат насыщенными жирными кислотами и белком. Он обладает уникальной способностью высвобождать и поглощать свободные жирные кислоты (СЖК), что отличает его от других депо висцерального жира. В физиологических условиях это важно для миокарда, поскольку производство энергии в сердце в основном генерируется окислением СЖК. Эпикардиальный жир является также источником ряда биологически активных веществ, которые могут оказывать защитный эффект или отрицательно влиять на миокард и коронарные артерии [24].

В физиологических условиях эпикардиальный жир проявляет кардиопротективное действие посредством паракринной или вазокринной секреции антиатерогенных цитокинов, таких как адипонектин и адреномедуллин. В условиях патологии производство и секреция защитных адипокинов может быть подавлена. Уровень адипонектина в эпикардиальной ЖТ ниже у пациентов с ИБС или сердечной недостаточностью, чем у здоровых людей. Эпикардиальная ЖТ может оказывать негативное действие в том случае, если в прилегающий миокард и коронарный кровоток поступают в большом количестве провоспалительные и атерогенные цитокины, такие как моноцитарный хемоаттрактантный белок 1, интерлейкин-1 β , интерлейкин-6 и ФНО- α . Являются ли эти изменения следствием или причиной ИБС и сердечной недостаточности пока не ясно, но, вероятно, эти процессы взаимные и двунаправленные [24].

Связь перикардиальной ЖТ с риском ССЗ также оценивалась в клинических исследованиях. Увеличенное количество перикардиального жира, оцененное при КТ у 4234 обследованных пациентов, было ассоциировано с худшим прогнозом ССЗ и ремоделированием левого желудочка сердца [25]. Количество перикардиального жира, измеренного при выполнении компьютерной томографии (КТ) и магнитно-резонансной томографии (МРТ), коррелировало с массой миокарда левого желудочка, конечным диастолическим объемом левого желудочка, размером левого предсердия и частотой возникновения фибрилляции предсердий.

Клиническое значение эпикардиальной и перикардиальной жировой ткани в развитии ССЗ является предметом дискуссий. J. Ding с соавт. провели проспективное исследование с участием 998 случайно отобранных пациентов, чтобы установить может ли количество перикардиального жира быть прогностическим показателем развития ИБС. Объем перикардиального жира определяли при КТ в начале наблюдения. Результатом проведенной работы был вывод, что перикардиальная ЖТ является предиктором возникновения ИБС независимо от традиционных факторов риска, включая ИМТ [26]. В ответной публикации G. Iacobellis подверг критике предположение о значении перикардиальной ВЖТ [27]. Были приведены данные, что эпикардиальная и перикардиальная ЖТ не идентичны, они различаются эмбриологически, анатомически и функционально, а метаболические нарушения

и ССЗ ассоциируются только с эпикардиальной ЖТ. Автор сообщения аргументировал свою позицию тем, что эпикардиальный жир расположен между наружной стенкой миокарда и висцеральным листком перикарда и непосредственно прилегает к сердечной мышце. Перикардиальный жир расположен перед эпикардиальным жиром, между висцеральным и париетальными листками перикарда. Эпикардиальный жир происходит из спланхноплевральной мезодермы и кровоснабжается за счет ветвей коронарных артерий. Перикардиальное жировое депо является производным торакальной мезенхимы и кровоснабжается за счет ветвей а. pericardiacophrenica внутренней маммарной артерии, не имея общего кровоснабжения с миокардом [24, 28].

Тем не менее, проведенные другими исследовательскими группами работы не согласуются с такой позицией. Выполненный в Италии сравнительный анализ УЗИ околосердечных жировых депо в сравнении с данными МРТ показал, что толщина перикардиального жира по данным эхокардиографии хорошо коррелировала с результатами измерений в соответствующей области, выполненными при МРТ ($r=0,36$, $p=0,009$). Независимо от метода, используемого для количественного определения, величина перикардиальной ЖТ коррелировала с показателями ИМТ, ОТ, количеством висцерального и подкожного жира, уровнем АД, содержанием триглицеридов, холестерина, глюкозы и риском ИБС. Напротив, толщина эпикардиальной ЖТ ассоциировалась только с возрастом. На основании полученных результатов исследователи пришли к выводу, что в клинической практике величина перикардиальной ЖТ является лучшим маркером кардиометаболического риска, чем толщина эпикардиального жира [29].

Необходимо учитывать, что имеется некоторое несоответствие в терминологии, касающейся околосердечной ЖТ. Некоторые исследовательские группы проводили оценку жировых отложений вокруг сердца как единого целого, не разделяя их на эпикардиальный и перикардиальный жир. Перикардиальную ЖТ нередко называют паракардиальным жиром, а сумму эпикардиальной и перикардиальной ЖТ перикардиальным жиром [30].

Количество внутрибрюшной ВЖТ также является хорошим индикатором факторов кардиометаболического риска при ожирении [31].

Следует отметить, что у обследованных нами пациентов с АГ и ИБС констатировано уве-

личение толщины интима-медиа общей сонной артерии с обеих сторон.

Связь между околопочечной, окологердечной и внутрибрюшной ЖТ и поражением сонных артерий описана и другими исследователями. Ранее было показано, что измерение толщины периренального жира можно использовать в качестве раннего предиктора увеличения толщины интима-медиа [32]. В популяционном исследовании Rotterdam Study с включением 2298 участников было выявлено, что увеличение объема эпикардального жира было связано с большей распро-

страненностью кальцификации коронарных артерий, дуги аорты и экстракраниальных сонных артерий у пациентов обоего пола. На основании полученных результатов D. Vos с соавт. пришли к выводу, что эпикардальный жир оказывает системное влияние в отношении развития атеросклероза [33]. G.A. Rodriguez-Granillo с соавт. изучили взаимосвязь между выраженностью атеросклеротического поражения коронарных артерий с общим ожирением и региональными жировыми отложениями, исследованными при КТ. На основании проведенного исследования было сделано

Таблица 2 – Граничные значения ультразвуковых показателей висцеральной жировой ткани у пациентов с артериальной гипертензией

Ультразвуковой показатель	Граничное значение (cut-off)	Характеристика диагностических показателей				
		Ч (%)	С (%)	Площадь под кривой с 95% ДИ	Стандартная ошибка	Р
ТВБЖТ-1	> 38,6 мм	85,29	64,15	0,719 (0,612-0,810)	0,058	<0,001
ТВБЖТ-2	> 56,0 мм	81,82	57,69	0,684 (0,574-0,780)	0,061	0,003
ТВБЖТ-3	> 63,0 мм	84,85	58,49	0,703 (0,595-0,797)	0,060	<0,001
ТВБЖТ-4	> 54,6 мм	55,88	70,59	0,608 (0,496-0,712)	0,063	0,090
ТЗПРЖТ	> 8,2 мм	64,71	62,26	0,658 (0,548-0,756)	0,061	0,010
ТППНЖТ	> 30,4 мм	55,88	69,81	0,589 (0,478-0,693)	0,063	0,161
ПНОПЖТ справа	> 18,24 см ²	73,53	64,15	0,717 (0,611-0,809)	0,058	<0,001
ПНОПЖТ слева	> 22,58 см ²	66,67	81,13	0,759 (0,655-0,845)	0,056	<0,001
ПНОПЖТ среднее	> 24,47 см ²	67,65	83,02	0,755 (0,651-0,841)	0,055	<0,001
ТППЖТ	> 5,1 мм	85,29	60,38	0,729 (0,624-0,819)	0,057	<0,001
ТЭЖТ	>1,1 мм	82,35	30,19	0,549 (0,439-0,656)	0,064	0,442
ТПЖТ	>1,8 мм	79,41	35,85	0,556 (0,445-0,662)	0,064	0,382
Сумма ТЭЖТ и ТПЖТ	>3,6 мм	88,24	33,96	0,571 (0,460-0,676)	0,064	0,266

Примечание: Ч – чувствительность; С – специфичность; ДИ – доверительный интервал; р – показатель статистической значимости; ТВБЖТ-1 – толщина внутрибрюшной висцеральной жировой ткани до передней стенки аорты; ТВБЖТ-2 – толщина внутрибрюшной висцеральной жировой ткани до задней стенки аорты; ТВБЖТ-3 – толщина внутрибрюшной висцеральной жировой ткани до поясничного позвонка L4; ТВБЖТ-4 – толщина внутрибрюшной висцеральной жировой ткани до селезеночной вены; ТЗПРЖТ – толщина заднего периренального пространства справа; ТППНЖТ – толщина пара- и перинефральной жировой ткани; ПНОПЖТ – площадь нижней части околопочечной жировой ткани; ТППЖТ – толщина передней перинефральной жировой ткани; ТЭЖТ – толщина эпикардальной жировой ткани; ТПЖТ – толщина перикардальной жировой ткани.

Таблица 3 – Граничные значения ультразвуковых показателей висцеральной жировой ткани у пациентов с ишемической болезнью сердца

Ультразвуковой показатель	Граничное значение (cut-off)	Характеристика диагностических показателей				
		Ч (%)	С (%)	Площадь под кривой с 95% ДИ	Стандартная ошибка	p
ТВБЖТ-1	>42,7 мм	85,29	67,92	0,775 (0,673-0,857)	0,054	<0,001
ТВБЖТ-2	>61,3 мм	76,47	65,38	0,738 (0,632-0,827)	0,057	<0,001
ТВБЖТ-3	>63,6 мм	79,41	62,26	0,752 (0,648-0,839)	0,056	<0,001
ТВБЖТ-4	>54,0 мм	70,59	68,63	0,661 (0,550-0,760)	0,062	0,009
ТЗПРЖТ	>6,9 мм	79,41	45,28	0,623 (0,512-0,724)	0,063	0,050
ТППНЖТ	>28,9 мм	58,82	67,92	0,581 (0,471-0,686)	0,064	0,201
ПНОПЖТ справа	>18,24 см ²	76,47	64,15	0,700 (0,593-0,794)	0,059	<0,001
ПНОПЖТ слева	>23,68 см ²	52,94	83,02	0,711 (0,603-0,803)	0,059	<0,001
ПНОПЖТ среднее	>21,12 см ²	67,65	75,47	0,720 (0,614–0,811)	0,058	<0,001
ТППЖТ	>11,0 мм	29,41	92,45	0,613 (0,502-0,715)	0,063	0,072
ТЭЖТ	>4,0 мм	58,82	88,68	0,753 (0,649-0,839)	0,056	<0,001
ТПЖТ	>2,7 мм	73,53	64,15	0,706 (0,599-0,799)	0,059	<0,001
ТЭЖТ+ ТПЖТ	>6,3 мм	82,35	67,92	0,787 (0,686-0,867)	0,053	<0,001

Примечание: Ч – чувствительность; С – специфичность; ДИ – доверительный интервал; p – показатель статистической значимости; ТВБЖТ-1 – толщина внутрибрюшной висцеральной жировой ткани до передней стенки аорты; ТВБЖТ-2 – толщина внутрибрюшной висцеральной жировой ткани до задней стенки аорты; ТВБЖТ-3 – толщина внутрибрюшной висцеральной жировой ткани до поясничного позвонка L4; ТВБЖТ-4 – толщина внутрибрюшной висцеральной жировой ткани до селезеночной вены; ТЗПРЖТ – толщина заднего периренального пространства справа; ТППНЖТ – толщина пара- и перинефральной жировой ткани; ПНОПЖТ – площадь нижней части околопочечной жировой ткани; ТППЖТ – толщина передней перинефральной жировой ткани; ТЭЖТ – толщина эпикардиальной жировой ткани; ТПЖТ – толщина перикардиальной жировой ткани.

заключение, что не общее ожирение, а перикардиальный и внутрибрюшной жир связаны с более выраженным атеросклерозом. В то же время между количеством подкожного жира в области живота и атеросклеротическим поражением сосудов была выявлена обратная связь [34]. Негативное влияние внутрибрюшной ВЖТ и эпикардиального жира на риск развития атеросклероза подтверждено еще в одном недавно выполненном исследовании [35].

Изученные ультразвуковые показатели количества ВЖТ были нами использованы для

определения точек отсечения (cut-off), которые могут служить ориентиром для выделения пациентов с факторами риска ССЗ. На основе проведенного ROC-анализа, результаты которого отражены в таблицах 2 и 3, установлены граничные значения величины локальных жировых депо.

Значение ППК для площади нижней части околопочечной жировой ткани свидетельствует о хорошем качестве модели, что дает возможность рассматривать его в качестве удобного ультразвукового параметра, позволяющего ориентировать клиницистов в отношении риска развития АГ

(рис. 1). Полученные нами раньше данные свидетельствуют о связи увеличения содержания околопочечной ВЖТ с повышением массы миокарда левого желудочка у пациентов с АГ [36].

Для оценки вероятности развития ИБС ключевым показателем может служить определение толщины околосердечной жировой ткани (рис. 2). В комплексе обследования рационально определять также толщину внутрибрюшной ЖТ. Ранее нами и другими исследователями была установлена хорошая воспроизводимость обсуждаемых ультразвуковых методик [37].

Полученные нами результаты граничных значений локальных жировых депо согласуются с выполненными аналогичными исследованиями.

W. Gong с соавт. [38] предложили определение при УЗИ площади нижней части околопочечной ЖТ в качестве показателя висцерального ожирения и сердечно-сосудистых факторов риска при метаболическом синдроме (МС). Данный ультразвуковой показатель был ассоциирован с уровнем общего холестерина, холестерина липопротеинов низкой плотности, С-реактивного протеина и АД у пациентов обоего пола. При этом отсутствовала корреляция с возрастом. В качестве критерия висцерального ожирения использовалось значение площади ВЖТ, измеренной с помощью MPT, равное или более 110 см² для пациентов обоих полов. На основании выполненного ROC-анализа были определены пороговые значения площади нижней части околопочечной ЖТ, которые составили 11,1 см² для мужчин и 8,8 см² для женщин. Предложенные авторами ис-

следования величины существенно меньше, чем полученные нами ранее для пациентов с МС [39, 40]. Такие отличия могут быть связаны с тем, что имеются существенные этнические и генетические отличия между людьми, проживающими в разных регионах мира [9]. По этой причине не определены универсальные граничные значения, которые могли бы быть пригодны для практического использования повсеместно.

Количественная оценка околосердечной ЖТ может осуществляться различными методами визуализации. Двумерная трансторакальная эхокардиография является наиболее доступной и безопасной процедурой для измерения околосердечной ЖТ. В то же время отсутствуют консенсусные данные по величине околосердечной ЖТ для пациентов с ожирением и МС [3].

Эхокардиографический показатель толщины эпикардального жира по данным разных исследователей колеблется от минимального, равного 1 мм, до максимального, которое составляет почти 23 мм. Он четко отражает висцеральное, но не общее ожирение. Широкий диапазон толщины эпикардального жира, вероятно, определяется существенным изменением распределения абдоминального жира. Толщина эпикардального жира тесно связана с МС, резистентностью к инсулину, ИБС и субклиническим атеросклерозом. Самые большие значения количества эпикардального жира наблюдались при чрезвычайно высоком содержании жира в брюшной полости и выраженной инсулинорезистентности [28].

Полученные разными исследователями по-

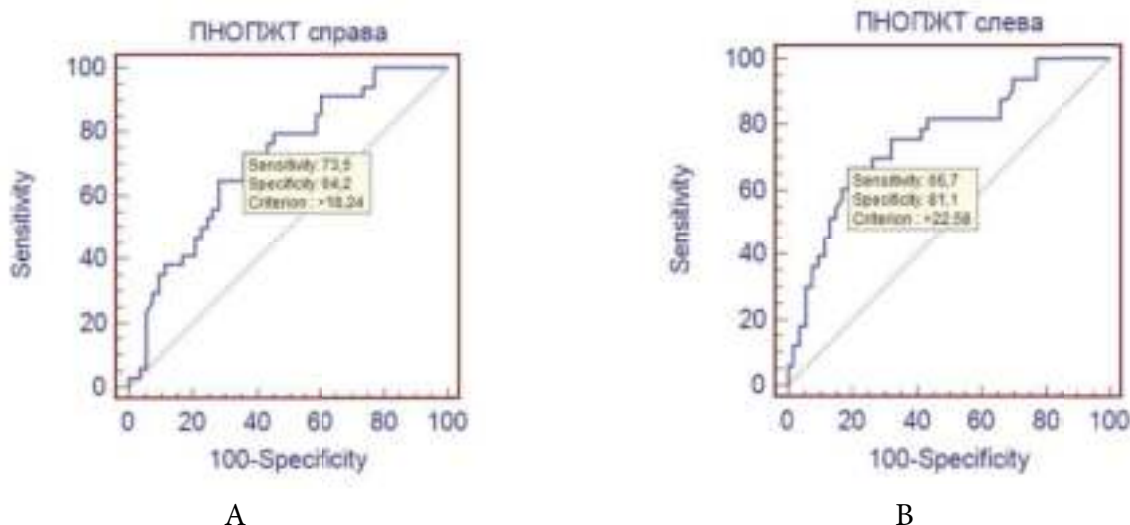


Рисунок 1 – ROC-кривая для определения граничного значения ультразвукового показателя площади нижней части околопочечной жировой ткани справа (А) и слева (В) у пациентов с артериальной гипертензией.

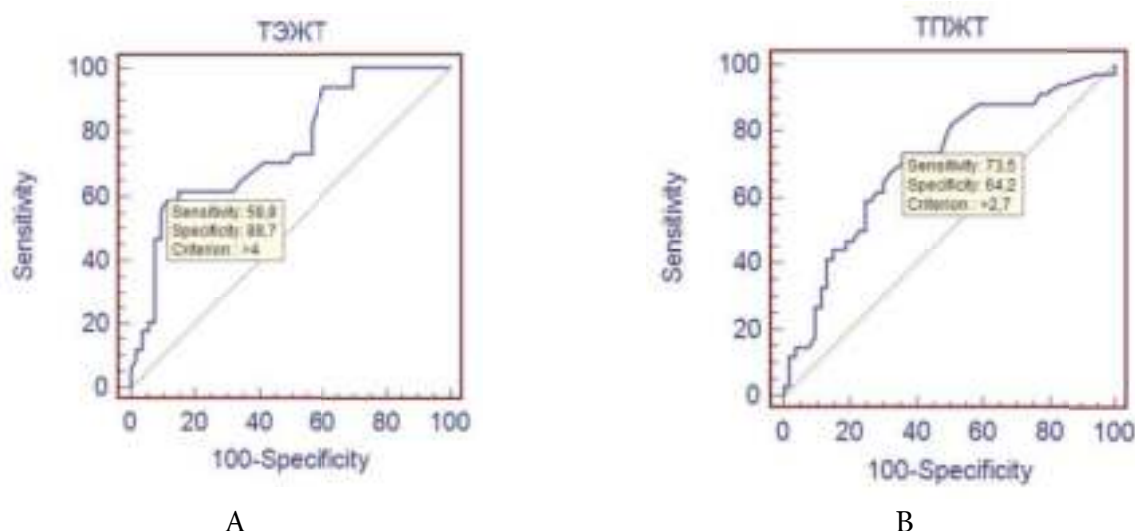


Рисунок 2 – ROC-кривая для определения граничного значения ультразвукового показателя эпикардиальной (А) и перикардиальной (В) жировой ткани у пациентов с ишемической болезнью сердца.

роговые значения толщины эпикардиальной ЖТ различаются. G. Iacobellis с соавт. [28] определили среднюю толщину эпикардиального жира, равную 7 мм у мужчин и 6,5 мм у женщин в большой популяции пациентов, которым выполнялась трансторакальная эхокардиография по стандартным клиническим показаниям. Для прогнозирования МС были предложены значения толщины эпикардиального жира, равные 9,5 мм и 7,5 мм у мужчин и женщин соответственно. A.G. Bertaso с соавт. на основании проведенного метаанализа назвали граничные значения для эпикардиальной ЖТ, позволяющие оценить кардиометаболический риск (толщина >5 мм, объем >125 мл или 68 мл/м²) [30]. J.W. Jeong с соавт. [41] установили среднюю толщину эпикардиального жира для пациентов с ИБС, равную 6,38 мм (от 1,10 до 16,55 мм). По данным F. Natale с соавт. [42] нормальный верхний предел толщины эпикардиального жира равен 7 мм. Ее увеличение >7 мм было сопряжено с субклиническим атеросклерозом. В проведенном в Турции исследовании установлено, что толщина эпикардиальной ЖТ была значительно выше у пациентов с ИБС по сравнению с теми, кто имел нормальные коронарные артерии (6,9±1,5 мм против 4,4±0,8 мм; $p<0,001$), а ее значение $\geq 5,2$ мм позволяло прогнозировать риск ИБС [43]. Значения толщины эпикардиального жира >3,0 мм были независимо связаны с наличием ИБС в корейской популяции у мужчин и женщин [44]. S.D. Pierdomenico с соавт. выполнили метаанализ девяти исследований и показали, что толщина эпикардиальной ЖТ по данным УЗИ значительно выше у пациентов с

МС, чем у тех, кто его не имеет, при этом были выявлены различия по этническому признаку. Объединенная популяция состояла из 2027 субъектов, 1030 из которых имели МС. Средние значения толщины эпикардиальной ЖТ по данным разных исследователей у субъектов без МС варьировали от 2,4 мм до 5,43 мм, а при МС – от 3,6 мм до 9,4 мм [45]. Несмотря на отличия пороговых значений в разных популяциях, толщина эпикардиального жира тесно связана с МС, резистентностью к инсулину, ИБС и субклиническим атеросклерозом и по этой причине ее определение может оказаться полезным для прогнозирования кардиометаболического риска [28].

В исследовании на близнецах установлено, что генетические факторы оказывают существенное влияние на объем эпикардиальной ЖТ, количество подкожной ЖТ в области живота и объем внутрибрюшной ВЖТ, в то время как факторы окружающей среды оказывают лишь незначительное влияние [46].

Заключение

1. По данным ультразвукового исследования у пациентов с АГ толщина задней и передней перинефральной ЖТ, а также площадь нижней части околопочечной ЖТ существенно превышали аналогичные показатели у обследованных контрольной группы.

2. Эхографически выявленное увеличение толщины эпикардиальной и перикардиальной ЖТ ассоциировано с ИБС.

3. Ультразвуковые показатели толщины внутрибрюшной ВЖТ значительно увеличены у пациентов с АГ и ИБС.

4. Граничные значения площади нижней части околопочечной ЖТ при АГ в сравнении с обследованными контрольной группы составили справа 18,24 см² (чувствительность – 73,53%, специфичность – 64,15%), слева – 22,58 см² (чувствительность – 66,67%, специфичность – 81,13%).

5. Для пациентов с ИБС пороговыми значениями ультразвуковых показателей, разграничивающими их со здоровыми субъектами, являются толщина эпикардиальной ЖТ более 4,0 мм (чувствительность – 58,82%, специфичность – 88,68%) и толщина перикардиальной ЖТ – 2,7 мм (чувствительность – 73,53%, специфичность – 64,15%).

Литература

- Comparison of epicardial, abdominal and regional fat compartments in response to weight loss / M. K. Kim [et al.] // *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* – 2009 Dec. – Vol. 19, N 11. – P. 760–766.
- Obesity and Prevalence of Cardiovascular Diseases and Prognosis-The Obesity Paradox Updated / C. J. Lavie [et al.] // *Prog. Cardiovasc. Dis.* – 2016 Mar-Apr. – Vol. 58, N 5. – P. 537–547.
- Epicardial adipose tissue and cardiovascular diseases / A. M. Ansaldi [et al.] // *Int. J. Cardiol.* – 2019 Mar. – Vol. 278. – P. 254–260.
- Overview of Epidemiology and Contribution of Obesity and Body Fat Distribution to Cardiovascular Disease: An Update / M. E. Piché [et al.] // *Prog. Cardiovasc. Dis.* – 2018 Jul-Aug. – Vol. 61, N 2. – P. 103–113.
- Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity / K. G. Alberti [et al.] // *Circulation.* – 2009 Oct. – Vol. 120, N 16. – P. 1640–1645.
- Britton, K. A. Ectopic fat depots and cardiovascular disease / K. A. Britton, C. S. Fox // *Circulation.* – 2011 Dec. – Vol. 124, N 24. – P. e837–e841.
- Sam, S. Differential effect of subcutaneous abdominal and visceral adipose tissue on cardiometabolic risk / S. Sam // *Horm. Mol. Biol. Clin. Investig.* – 2018 Mar. – Vol. 33, N 1.
- Impact of different ectopic fat depots on cardiovascular and metabolic diseases / D. Ferrara [et al.] // *J. Cell. Physiol.* – 2019 Dec. – Vol. 234, N 12. – P. 21630–21641.
- Assessing adiposity: a scientific statement from the American heart association / M. A. Cornier [et al.] // *Circulation.* – 2011 Nov. – Vol. 124, N 18. – P. 1996–2019.
- Оценка результатов измерения количества висцеральной жировой ткани при ультразвуковом исследовании и компьютерной томографии / С. И. Пиманов [и др.] // *Ультразвуковая и функционал. диагностика.* – 2016. – № 4. – С. 59–72.
- Костюкова, Н. И. Статистические методы в медицине / Н. И. Костюкова, А. Е. Кулинов // *Альм. современ. науки и образования.* – 2011. – № 4. – С. 100–107.
- Schober, P. Correlation Coefficients: Appropriate Use and Interpretation / P. Schober, C. Boer, L. A. Schwarte // *Anesth. Analg.* – 2018 May. – Vol. 126, N 5. – P. 1763–1768.
- Obesity-induced hypertension: interaction of neurohumoral and renal mechanisms / J. E. Hall [et al.] // *Circ. Res.* – 2017 Mar. – Vol. 116, N 6. – P. 991–1006.
- Liu, B. X. Perirenal Fat: A Unique Fat Pad and Potential Target for Cardiovascular Disease / B. X. Liu, W. Sun, X. Q. Kong // *Angiology.* – 2019 Aug. – Vol. 70, N 7. – P. 584–593.
- Para- and perirenal ultrasonographic fat thickness is associated with 24-hours mean diastolic blood pressure levels in overweight and obese subjects / G. De Pergola [et al.] // *BMC Cardiovasc. Disord.* – 2015 Sep. – Vol. 15. – P. 108.
- Morbid obesity and hypertension: The role of perirenal fat / M. A. Ricci [et al.] // *J. Clin. Hypertens. (Greenwich).* – 2018 Oct. – Vol. 20, N 10. – P. 1430–1437.
- Obesity, kidney dysfunction and hypertension: mechanistic links / J. E. Hall [et al.] // *Nat. Rev. Nephrol.* – 2019 Jan. – Vol. 15, N 6. – P. 367–385.
- Perirenal Fat Promotes Renal Arterial Endothelial Dysfunction in Obese Swine through Tumor Necrosis Factor- α / S. Ma [et al.] // *J. Urol.* – 2016 Apr. – Vol. 195, N 4, pt. 1. – P. 1152–1159.
- Para- and perirenal fat thickness is an independent predictor of chronic kidney disease, increased renal resistance index and hyperuricaemia in type-2 diabetic patients / O. Lamacchia [et al.] // *Nephrol. Dial. Transplant.* – 2011 Mar. – Vol. 26, N 3. – P. 892–898.
- Reisin, E. Obesity and hypertension: mechanisms, cardio-renal consequences, and therapeutic approaches / E. Reisin, A. V. Jack // *Med. Clin. North. Am.* – 2009 May. – Vol. 93, N 3. – P. 733–751.
- Intra-abdominal fat accumulation is a hypertension risk factor in young adulthood: A cross-sectional study / A. Takeoka [et al.] // *Medicine (Baltimore).* – 2016 Nov. – Vol. 95, N 45. – e5361.
- Association of epicardial fat with cardiovascular risk factors and incident myocardial infarction in the general population: the Heinz Nixdorf Recall Study / A. A. Mahabadi [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2013 Apr. – Vol. 61, N 13. – P. 1388–1395.
- Association of Epicardial Adipose Tissue and High-Risk Plaque Characteristics: A Systematic Review and Meta-Analysis / N. Nerlekar [et al.] // *J. Am. Heart Assoc.* – 2017 Aug. – Vol. 6, N 8. – e006379.
- Iacobellis, G. Local and systemic effects of the multifaceted epicardial adipose tissue depot / G. Iacobellis // *Nat. Rev. Endocrinol.* – 2015 Jun. – Vol. 11, N 6. – P. 363–371.
- Pericardial, But Not Hepatic, Fat by CT Is Associated With CV Outcomes and Structure: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis / R. V. Shah [et al.] // *JACC Cardiovasc. Imaging.* – 2017 Sep. – Vol. 10, N 9. – P. 1016–1027.
- The association of pericardial fat with incident coronary heart disease: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA) / J. Ding [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2009 Sep. – Vol. 90, N 3. – P. 499–504.

27. Iacobellis, G. Epicardial and pericardial fat: close, but very different / G. Iacobellis // *Obesity* (Silver Spring). – 2009 Apr. – Vol. 17, N 4. – P. 625.
28. Iacobellis, G. Echocardiographic epicardial fat: a review of research and clinical applications / G. Iacobellis, H. J. Willens // *J. Am. Soc. Echocardiogr.* – 2009 Dec. – Vol. 22, N 12. – P. 1311–1319.
29. Pericardial rather than epicardial fat is a cardiometabolic risk marker: an MRI vs echo study / R. Sicari [et al.] // *J. Am. Soc. Echocardiogr.* – 2011 Oct. – Vol. 24, N 10. – P. 1156–1162.
30. Epicardial fat: definition, measurements and systematic review of main outcomes / A. G. Bertaso [et al.] // *Arq. Bras. Cardiol.* – 2013 Jul. – Vol. 101, N 1. – P. e18–e28.
31. Sonographically Assessed Intra-Abdominal Fat And Cardiometabolic Risk Factors in Adolescents with Extreme Obesity / A. Moss [et al.] // *Obes. Facts.* – 2016. – Vol. 9, N 2. – P. 121–137.
32. Sonographically measured perirenal fat thickness: an early predictor of atherosclerosis in HIV-1-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy? / P. Grima [et al.] // *J. Clin. Ultrasound.* – 2010 May. – Vol. 38, N 4. – P. 190–195.
33. Epicardial fat volume is related to atherosclerotic calcification in multiple vessel beds / D. Bos [et al.] // *Eur. Heart. J. Cardiovasc. Imaging.* – 2015 Nov. – Vol. 16, N 11. – P. 1264–1269.
34. Pericardial and visceral, but not total body fat, are related to global coronary and extra-coronary atherosclerotic plaque burden / G. A. Rodriguez-Granillo [et al.] // *Int. J. Cardiol.* – 2018 Jun. – Vol. 260. – P. 204–210.
35. Epicardial and visceral adipose tissue in relation to subclinical atherosclerosis in a Chinese population / N. Ei Ei Khaing [et al.] // *PLoS One.* – 2018 Apr. – Vol. 13, N 4. – e0196328.
36. Корреляция ультразвуковых показателей околопочечной висцеральной жировой ткани и массы миокарда левого желудочка / В. М. Бондаренко [и др.] // *Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации : материалы 74-й науч. сес. ВГМУ (23–24 янв. 2019 г.) / М-во здравоохранения Республики Беларусь, УО «Витебский гос. ордена Дружбы народов мед. ун-т». – Витебск : ВГМУ, 2019. – С. 146–148.*
37. Бондаренко, В. М. Воспроизводимость ультразвуковых методов определения количества висцеральной жировой ткани / В. М. Бондаренко, С. И. Пиманов // *Вестн. ВГМУ.* – 2017. – Т. 16, № 3. – С. 73–81.
38. A comparison of ultrasound and magnetic resonance imaging to assess visceral fat in the metabolic syndrome / W. Gong [et al.] // *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* – 2007. – Vol. 16, suppl. 1. – P. 339–345.
39. Бондаренко, В. М. Ультразвуковая диагностика висцерального ожирения / В. М. Бондаренко, С. И. Пиманов, Е. В. Макаренко // *Вестн. ВГМУ.* – 2017. – Т. 16, № 1. – С. 71–79.
40. Бондаренко, В. М. Определение граничных значений ультразвуковых показателей количества околопочечной висцеральной жировой ткани у пациентов с метаболическим синдромом / В. М. Бондаренко // *Вестн. ВГМУ.* – 2019. – Т. 18, № 2. – С. 74–80.
41. Echocardiographic epicardial fat thickness and coronary artery disease / J. W. Jeong [et al.] // *Circ. J.* – 2007 Apr. – Vol. 71, N 4. – P. 536–539.
42. Visceral adiposity and arterial stiffness: echocardiographic epicardial fat thickness reflects, better than waist circumference, carotid arterial stiffness in a large population of hypertensives / F. Natale [et al.] // *Eur. J. Echocardiogr.* – 2009 Jun. – Vol. 10, N 4. – P. 549–555.
43. Epicardial adipose tissue thickness by echocardiography is a marker for the presence and severity of coronary artery disease / S. Eroglu [et al.] // *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* – 2009. – Vol. 19, N 3. – P. 211–217.
44. Relationship of epicardial adipose tissue by echocardiography to coronary artery disease / S. G. Ahn [et al.] // *Heart.* – 2008 Mar. – Vol. 94, N 3. – e7.
45. Meta-analysis of the relation of echocardiographic epicardial adipose tissue thickness and the metabolic syndrome / S. D. Pierdomenico [et al.] // *Am. J. Cardiol.* – 2013 Jan. – Vol. 111, N 1. – P. 73–78.
46. Assessing genetic and environmental influences on epicardial and abdominal adipose tissue quantities: a classical twin study / A. L. Jermendy [et al.] // *Int. J. Obes. (Lond.).* – 2018 Feb. – Vol. 42, N 2. – P. 163–168.

Поступила 06.09.2019 г.

Принята в печать 27.09.2019 г.

References

1. Kim MK, Tanaka K, Kim MJ, Matuso T, Endo T, Tomita T, et al. Comparison of epicardial, abdominal and regional fat compartments in response to weight loss. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2009 Dec;19(11):760-6. doi: 10.1016/j.numecd.2009.01.010
2. Lavie CJ, De Schutter A, Parto P, Jahangir E, Kokkinos P, Ortega FB, et al. Obesity and Prevalence of Cardiovascular Diseases and Prognosis-The Obesity Paradox Updated. *Prog Cardiovasc Dis.* 2016 Mar-Apr;58(5):537-47. doi: 10.1016/j.pcad.2016.01.008
3. Ansaldo AM, Montecucco F, Sahebkar A, Dallegri F, Carbone F. Epicardial adipose tissue and cardiovascular diseases. *Int J Cardiol.* 2019 Mar;278:254-260. doi: 10.1016/j.ijcard.2018.09.089
4. Piché ME, Poirier P, Lemieux I, Després JP. Overview of Epidemiology and Contribution of Obesity and Body Fat Distribution to Cardiovascular Disease: An Update. *Prog Cardiovasc Dis.* 2018 Jul-Aug;61(2):103-113. doi: 10.1016/j.pcad.2018.06.004
5. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation.* 2009 Oct;120(16):1640-5. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644
6. Britton KA, Fox CS. Ectopic fat depots and cardiovascular disease. *Circulation.* 2011 Dec;124(24):e837-41. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.077602
7. Sam S. Differential effect of subcutaneous abdominal and visceral adipose tissue on cardiometabolic risk. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2018 Mar;33(1). doi: 10.1515/hmbci-2018-0014

8. Ferrara D, Montecucco F, Dallegrì F, Carbone F. Impact of different ectopic fat depots on cardiovascular and metabolic diseases. *J Cell Physiol.* 2019 Dec;234(12):21630-21641. doi: 10.1002/jcp.28821
9. Cornier MA, Després JP, Davis N, Grossniklaus DA, Klein S, Lamarche B, et al. Assessing adiposity: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2011 Nov;124(18):1996-2019. doi: 10.1161/CIR.0b013e318233bc6a
10. Pimanov SI, Bondarenko VM, Marchuk VP, Mikhaylova NA, Sapego AL, Makarenko EV. Evaluation of the results of measuring the amount of visceral adipose tissue during ultrasound and computed tomography. *Ul'trazvukovaia Funktsional Diagnostika.* 2016;(4):59-72. (In Russ.)
11. Kostyukova NI, Kudinov AE. Statistical methods in medicine. *Al'm Sovremen Nauki Obrazovaniia.* 2011;(4):100-7. (In Russ.)
12. Schober P, Boer C, Schwarte LA. Correlation Coefficients: Appropriate Use and Interpretation. *Anesth Analg.* 2018 May;126(5):1763-1768. doi: 10.1213/ANE.0000000000002864
13. Hall JE, do Carmo JM, da Silva AA, Wang Z, Hall ME. Obesity-induced hypertension: interaction of neurohumoral and renal mechanisms. *Circ Res.* 2015 Mar;116(6):991-1006. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.305697
14. Liu BX, Sun W, Kong XQ. Perirenal Fat: A Unique Fat Pad and Potential Target for Cardiovascular Disease. *Angiology.* 2019 Aug;70(7):584-593. doi: 10.1177/0003319718799967
15. De Pergola G, Campobasso N, Nardecchia A, Triggiani V, Caccavo D, Gesualdo L, et al. Para- and perirenal ultrasonographic fat thickness is associated with 24-hours mean diastolic blood pressure levels in overweight and obese subjects. *BMC Cardiovasc Disord.* 2015 Sep;15:108. doi: 10.1186/s12872-015-0101-6
16. Ricci MA, Scavizzi M, Ministrini S, De Vuono S, Pucci G, Lupattelli G. Morbid obesity and hypertension: The role of perirenal fat. *J Clin Hypertens (Greenwich).* 2018 Oct;20(10):1430-1437. doi: 10.1111/jch.13370
17. Hall JE, do Carmo JM, da Silva AA, Wang Z, Hall ME. Obesity, kidney dysfunction and hypertension: mechanistic links. *Nat Rev Nephrol.* 2019 Jun;15(6):367-385. doi: 10.1038/s41581-019-0145-4
18. Ma S, Zhu XY, Eirin A, Woollard JR, Jordan KL, Tang H, et al. Perirenal Fat Promotes Renal Arterial Endothelial Dysfunction in Obese Swine through Tumor Necrosis Factor- α . *J Urol.* 2016 Apr;195(4 Pt 1):1152-9. doi: 10.1016/j.juro.2015.08.105
19. Lamacchia O, Nicastro V, Camarcho D, Valente U, Grisorio R, Gesualdo L, et al. Para- and perirenal fat thickness is an independent predictor of chronic kidney disease, increased renal resistance index and hyperuricaemia in type-2 diabetic patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2011 Mar;26(3):892-8. doi: 10.1093/ndt/gfq522
20. Reisin E, Jack AV. Obesity and hypertension: mechanisms, cardio-renal consequences, and therapeutic approaches. *Med Clin North Am.* 2009 May;93(3):733-51. doi: 10.1016/j.mcna.2009.02.010
21. Takeoka A, Tayama J, Yamasaki H, Kobayashi M, Ogawa S, Saigo T, et al. Intra-abdominal fat accumulation is a hypertension risk factor in young adulthood: A cross-sectional study. *Medicine (Baltimore).* 2016 Nov;95(45):e5361. doi: 10.1097/MD.0000000000005361
22. Mahabadi AA, Berg MH, Lehmann N, Kälsch H, Bauer M, Kara K, et al. Association of epicardial fat with cardiovascular risk factors and incident myocardial infarction in the general population: the Heinz Nixdorf Recall Study. *J Am Coll Cardiol.* 2013 Apr;61(13):1388-95. doi: 10.1016/j.jacc.2012.11.062
23. Nerlekar N, Brown AJ, Muthalaly RG, Talman A, Hettige T, Cameron JD, et al. Association of Epicardial Adipose Tissue and High-Risk Plaque Characteristics: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Am Heart Assoc.* 2017 Aug;6(8):e006379. doi: 10.1161/JAHA.117.006379
24. Iacobellis G. Local and systemic effects of the multifaceted epicardial adipose tissue depot. *Nat Rev Endocrinol.* 2015 Jun;11(6):363-71. doi: 10.1038/nrendo.2015.58
25. Shah RV, Anderson A, Ding J, Budoff M, Rider O, Petersen SE, et al. Pericardial, But Not Hepatic, Fat by CT Is Associated With CV Outcomes and Structure: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2017 Sep;10(9):1016-1027. doi: 10.1016/j.jcmg.2016.10.024
26. Ding J, Hsu FC, Harris TB, Liu Y, Kritchevsky SB, Szklo M, et al. The association of pericardial fat with incident coronary heart disease: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Am J Clin Nutr.* 2009 Sep;90(3):499-504. doi: 10.3945/ajcn.2008.27358
27. Iacobellis G. Epicardial and pericardial fat: close, but very different. *Obesity (Silver Spring).* 2009 Apr;17(4):625; author reply 626-7. doi: 10.1038/oby.2008.575
28. Iacobellis G, Willens HJ. Echocardiographic epicardial fat: a review of research and clinical applications. *J Am Soc Echocardiogr.* 2009 Dec;22(12):1311-9; quiz 1417-8. doi: 10.1016/j.echo.2009.10.013
29. Sicari R, Sironi AM, Petz R, Frassi F, Chubuchny V, De Marchi D, et al. Pericardial rather than epicardial fat is a cardiometabolic risk marker: an MRI vs echo study. *J Am Soc Echocardiogr.* 2011 Oct;24(10):1156-62. doi: 10.1016/j.echo.2011.06.013
30. Bertaso AG, Bertol D, Duncan BB, Foppa M. Epicardial fat: definition, measurements and systematic review of main outcomes. *Arq Bras Cardiol.* 2013 Jul;101(1):e18-28. doi: 10.5935/abc.20130138
31. Moss A, Sievert K, Siegfried W, Siegfried A, Brandt S, Koenig W, et al. Sonographically Assessed Intra-Abdominal Fat And Cardiometabolic Risk Factors in Adolescents with Extreme Obesity. *Obes Facts.* 2016;9(2):121-37. doi: 10.1159/000443690
32. Grima P, Guido M, Zizza A, Chiavaroli R. Sonographically measured perirenal fat thickness: an early predictor of atherosclerosis in HIV-1-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy? *J Clin Ultrasound.* 2010 May;38(4):190-5. doi: 10.1002/jcu.20664
33. Bos D, Shahzad R, van Walsum T, van Vliet LJ, Franco OH, Hofman A, et al. Epicardial fat volume is related to atherosclerotic calcification in multiple vessel beds. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2015 Nov;16(11):1264-9. doi: 10.1093/ehjci/jev086
34. Rodriguez-Granillo GA, Reynoso E, Capunay C, Carpio J, Carrascosa P. Pericardial and visceral, but not total body fat, are related to global coronary and extra-coronary atherosclerotic plaque burden. *Int J Cardiol.* 2018 Jun;260:204-210. doi: 10.1016/j.ijcard.2018.01.106
35. Ei Ei Khaing N, Shyong TE, Lee J, Soekkojo CY, Ng A, Van Dam RM. Epicardial and visceral adipose tissue in relation to subclinical atherosclerosis in a Chinese population. *PLoS One.* 2018 Apr;13(4):e0196328. doi: 10.1371/journal.pone.0196328

36. Bondarenko VM, Pimanov SI, Sychev OYu, Makarenko EV, Okorokov AN, Sapego LG, i dr. Correlation of ultrasound parameters of perinephric visceral adipose tissue and left ventricular myocardial mass. V: M-vo zdravookhraneniia Respubliki Belarus', UO Vitebskii gos ordena Druzhy narodov med un-t. Dostizheniia fundamental'noi, klinicheskoi meditsiny i farmatsii: materialy 74-i nauch ses VGMU (23–24 ianv 2019 g). Vitebsk, RB: VGMU; 2019. P. 146-8. (In Russ.)
37. Bondarenko VM, Pimanov SI. Reproducibility of ultrasonic methods for determining the amount of visceral adipose tissue. Vestn VGMU. 2017;16(3):73-81. (In Russ.)
38. Gong W, Ren H, Tong H, Shen X, Luo J, Chen S, Lai J, et al. A comparison of ultrasound and magnetic resonance imaging to assess visceral fat in the metabolic syndrome. Asia Pac J Clin Nutr. 2007;16 Suppl 1:339-45.
39. Bondarenko VM, Pimanov SI, Makarenko EV. Ultrasound Diagnosis of Visceral Obesity. Vestn VGMU. 2017;16(1):71-9. (In Russ.)
40. Bondarenko VM. Determination of the boundary values of ultrasound indicators of the amount of perinephric visceral adipose tissue in patients with metabolic syndrome. Vestn VGMU. 2019;18(2):74-80. (In Russ.)
41. Jeong JW, Jeong MH, Yun KH, Oh SK, Park EM, Kim YK, et al. Echocardiographic epicardial fat thickness and coronary artery disease. Circ J. 2007 Apr;71(4):536-9.
42. Natale F, Tedesco MA, Mocerino R, de Simone V, Di Marco GM, Aronne L, et al. Visceral adiposity and arterial stiffness: echocardiographic epicardial fat thickness reflects, better than waist circumference, carotid arterial stiffness in a large population of hypertensives. Eur J Echocardiogr. 2009 Jun;10(4):549-55. doi: 10.1093/ejechocardiography/jep002
43. Eroglu S, Sade LE, Yildirim A, Bal U, Ozbicer S, Ozgul AS, et al. Epicardial adipose tissue thickness by echocardiography is a marker for the presence and severity of coronary artery disease. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2009 Mar;19(3):211-7. doi: 10.1016/j.numecd.2008.05.002
44. Ahn SG, Lim HS, Joe DY, Kang SJ, Choi BJ, Choi SY, et al. Relationship of epicardial adipose tissue by echocardiography to coronary artery disease. Heart. 2008 Mar;94(3):e7.
45. Pierdomenico SD, Pierdomenico AM, Cuccurullo F, Iacobellis G. Meta-analysis of the relation of echocardiographic epicardial adipose tissue thickness and the metabolic syndrome. Am J Cardiol. 2013 Jan;111(1):73-8. doi: 10.1016/j.amjcard.2012.08.044
46. Jermendy AL, Kolossvary M, Drobni ZD, Tarnoki AD, Tarnoki DL, Karady J, et al. Assessing genetic and environmental influences on epicardial and abdominal adipose tissue quantities: a classical twin study. Int J Obes (Lond). 2018 Feb;42(2):163-168. doi: 10.1038/s41366-017-0212-2

Submitted 06.09.2019

Accepted 27.09.2019

Сведения об авторах:

Бондаренко В.М. – аспирант кафедры терапии № 2 ФПК и ПК, старший преподаватель кафедры госпитальной хирургии с курсами урологии и детской хирургии, Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет;

Пиманов С.И. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой терапии №2 факультета повышения квалификации и переподготовки кадров, Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет;

Макаренко Е.В. – д.м.н., профессор кафедры терапии №2 факультета повышения квалификации и переподготовки кадров, Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет.

Information about authors:

Bondarenko V.M. – postgraduate of the Chair of Internal Medicine No.2 of the Faculty for Advanced Training & Retraining, senior lecturer of the Chair of Hospital Surgery with the courses of Urology & Pediatric Surgery, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Pimanov S.I. – Doctor of Medical Sciences, professor, head of the Chair of Internal Medicine No.2 of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Makarenko E.V. – Doctor of Medical Sciences, professor of the Chair of Internal Medicine No.2 of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет, кафедра терапии № 2 ФПК и ПК. E-mail: bondarenko_v@tut.by – Бондаренко Владимир Михайлович.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Internal Medicine No.2 of the Faculty for Advanced Training & Retraining. E-mail: bondarenko_v@tut.by – Vladimir M. Bondarenko.

ОСОБЕННОСТИ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ХАРАКТЕРА ЭКСПРЕССИИ МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ 8 ПРИ ПАТОЛОГИИ ПЕРИОДОНТА

КАЗЕКО Л.А., ЗАХАРОВА В.А., АНФИНОГЕНОВА Е.А., ЧЕРСТВЫЙ Е.Д.

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2019. – Том 18, №5. – С. 99-106.

THE PECULIARITIES AND PROGNOSTIC VALUE OF THE MATRIX METALLOPROTEINASE 8 EXPRESSION CHARACTER IN PERIODONTAL PATHOLOGY

KAZEKO L.A., ZAKHARAVA V.A., ANFINOGENOVA E.A., CHERSTVOY E.D.

Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2019;18(5):99-106.

Резюме.

Цель – установление значения MMP8 для диагностики и определения характера течения периодонтитов на этапе манифестации заболевания путем морфометрической оценки характера ее экспрессии в биопсийном материале. Материал и методы. Проанализирован биопсийный материал десен 156 пациентов: группы сравнения (гингивиты $n=7$), быстро прогрессирующего ($n=64$), хронического простого ($n=23$) и хронического сложного ($n=62$) периодонтитов. Морфометрический и статистический анализ экспрессии MMP8 выполнен с использованием Aperio Image Scope v 9.0 и Statistica 10.0, $p<0,05$.

Результаты. Экспрессия MMP8 имела место во всех группах патологии периодонта в виде цитоплазматического окрашивания фагоцитов и очагово фибробластов. Выявлена прямая взаимосвязь позитивности ($\rho=0,59$) и интенсивности ($\rho=0,52$) стромальной экспрессии MMP8 с вовлеченностью эпителиального компонента в процесс воспаления. Наибольшая вариабельность с максимальной позитивностью и интенсивностью экспрессии MMP8 была выявлена в группе пациентов с быстро прогрессирующим периодонтитом (до 83%), уменьшалась до 63% и 54% в группе сравнения и хронического сложного периодонтита и не превышала 20% в группе хронического простого периодонтита. При комплексной оценке биопсийного материала в 4-6 случайных полях зрения в каждом случае позитивность и интенсивность экспрессии MMP8 была наибольшей в группе пациентов с признаками гингивитов, уменьшалась при хроническом простом и быстро прогрессирующем периодонтитах и была наименьшей в группе хронического сложного периодонтита.

Заключение. Наиболее информативными показателями для определения характера течения периодонтита на стадии манифестации заболевания и дифференциальной диагностики быстро прогрессирующего с хроническим простым и сложным периодонтитами являются интенсивность и позитивность экспрессии MMP8 соответственно.

Ключевые слова: периодонтит, матриксная металлопротеиназа 8, иммуногистохимия, экспрессия, прогноз.

Abstract.

Objectives. To establish the significance of matrix metalloproteinase 8 (MMP8) for the diagnosis and prognosis of the periodontal pathology in patients with periodontitis at the disease manifestation stage using morphometric analysis of the MMP8 expression in biopsy material.

Material and methods. A gingival biopsy material from 156 patients was analysed: control group (gingivitis only, $n=7$), rapidly progressive ($n=64$), chronic simple ($n=23$) and chronic complex ($n=62$) periodontitis. The data were processed using the AperioImageScope v 9.0 and Statistica 10.0, $p<0.05$.

Results. The expression of the MMP8 occurred in all samples in the form of cytoplasmic staining of the inflammatory infiltrate cells and fibroblasts. The correlation of the MMP8 stromal expression (positivity – $\rho=0.59$ and intensity – $\rho=0.52$) with the epithelial component damage in the process of inflammation was revealed. The highest variability of the

MMP8 expression («hot points» analysis) was in the group of patients with rapidly progressive periodontitis (up to 83%), decreased up to 63% and 54% in the groups of control and chronic complex periodontitis, respectively, and did not exceed 20% in the group of chronic simple periodontitis. At the same time, complex analysis of biopsy material in 4-6 random fields of view in each case showed the highest positivity and intensity of the MMP8 expression in the group of patients with the signs of gingivitis, with the decrease in the groups of chronic simple and rapidly progressive periodontitis and the lowest parameters in the group of chronic complex periodontitis.

Conclusions. For the prognosis and differential diagnosis of rapidly progressive periodontitis in comparison with chronic simple and chronic complex periodontitis at the disease manifestation stage the intensity and positivity of the MMP8 expression can be considered to be the most informative indicators.

Key words: periodontitis, matrix metalloproteinase 8, immunohistochemistry, expression, prognosis.

Патология периодонта представлена весьма разнообразными как в клинических, так и в морфологических проявлениях формами заболеваний, которые могут являться как самостоятельными нозологическими единицами, так и одним из проявлений той или иной системной патологии. В последние годы все чаще встречаются заболевания периодонта, имеющие «агрессивное», быстро прогрессирующее течение [1]. С позиций клинической и лучевой диагностики наиболее сложно дифференцировать быстро прогрессирующий и хронический сложный периодонтит из-за схожести их клинических, рентгенологических и морфологических проявлений. Поэтому многочисленными исследователями во всем мире предпринимаются попытки поиска новых маркеров, которые позволили бы прогнозировать течение заболевания на этапе его диагностики.

Одними из таких маркеров в последние годы выступают матриксные металлопротеиназы (MMPs), способные специфически гидролизовать основные белки внеклеточного матрикса, в том числе периодонтальных тканей. На сегодняшний день в литературе описано около 30 различных MMPs, которые обладают схожими свойствами и различаются по субстратной специфичности и структурной организации. Матриксная металлопротеиназа-8 (MMP8), или нейтрофильная коллагеназа 2, считается одним из ведущих маркеров воспаления периодонта и выявляется в пораженных участках десны, десневой жидкости и жидкости полости рта [2, 3]. Она содержится в специфических гранулах полиморфноядерных лейкоцитов в виде неактивного профермента, а также может синтезироваться и такими клетками, как фибробласты десны, эндотелий, одонтобласты, плазматические клетки и фибробласты пульпы [4]. Из интерстициальных коллагеназ I (MMP1), II (MMP8), III (MMP13), которые могут вызывать повреждение интактного

трехспирального коллагена, MMP8 проявляет в 3 раза большую ферментативную активность по сравнению с другими интерстициальными коллагеназами в отношении коллагена I и III типа, I тип которого преобладает во внеклеточном матриксе периодонта [5]. В условиях патологии любой дисбаланс между MMPs и их тканевыми ингибиторами вызывает разрушение коллагена десны, в том числе необратимое [2], что в итоге приводит к развитию периодонтита [6, 7].

В настоящее время наиболее рациональным методом при мониторинге периодонтита принято считать регулярное измерение потери прикрепления в процессе динамического наблюдения, однако это не позволяет прогнозировать течение заболевания. Глубина зондирования, потеря прикрепления и данные лучевых методов исследования отражают лишь «историю» повреждения периодонта. Это справедливо и в отношении кровоточивости при зондировании (индекса кровоточивости), которая зачастую зависит от степени давления на зонд и субъективных ощущений, что влияет на интерпретацию данного теста. Гистологическое исследование биопсийного материала наиболее достоверно отражает действительное состояние периодонта, однако несколько затруднительно в клиническом использовании в виду своей инвазивности и, в большинстве случаев, не позволяет прогнозировать характер течения заболевания.

Определение же уровней экспрессии биомолекулярных маркеров в биопсийном материале потенциально значимо как с фундаментальных позиций, так и прикладного значения и позволяет не только изучить вопросы патогенеза различных форм периодонтитов, но и выделить наиболее информативные маркеры для диагностики и определения прогноза течения данной патологии, своевременного выбора оптимальной тактики лечения пациентов с различными формами перио-

донтитов и оценки эффекта проводимой терапии.

Целью настоящего исследования является установление значения MMP8 для диагностики и определения характера течения периодонтитов на этапе манифестации заболевания путем морфометрической оценки характера ее экспрессии в биопсийном материале.

Материал и методы

Исследование выполнено на базах 1-ой кафедры терапевтической стоматологии (ГУ «Республиканская клиническая стоматологическая поликлиника») и патологической анатомии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет». Критериями включения в исследование явились клинико-рентгенологические признаки деструкции периодонта и возраст пациентов для быстро прогрессирующего периодонтита от 18 до 35 лет, для хронического (простого и сложного) периодонтита 36-60 лет. Проведено клинико-инструментальное обследование и лечение пациентов с патологией периодонта, включенных в исследование, с получением у каждого из них информированного согласия.

Стоматологическое обследование включало оценку гигиены полости рта (ОHI-S), оценку тяжести воспаления десны (GI), определение глубины зондирования периодонтальных карманов и утери прикрепления (LA), также фиксировались рецессия десны, поражение фуркации, патологическая миграция зубов, их подвижность, наличие окклюзионной травмы. Результаты обследования регистрировали в периодонтальной карте. Уровень и характер резорбции костной ткани оценивали при помощи панорамной рентгенографии или компьютерной томографии. С целью исключения соматической патологии, влияющей на состояние периодонта, были проведены лабораторные исследования (общий анализ крови, биохимический анализ крови, анализ крови на гормоны щитовидной железы), остеоденситометрия. Всем пациентам проведена профессиональная гигиена и закрытый кюретаж, во время которого выполнена биопсия мягких тканей периодонта с последующим его морфологическим исследованием.

Для последующего анализа морфологических и иммуногистохимических (ИГХ) признаков сформированы следующие группы: группы исследования – биопсийный материал пациентов с хроническим простым (ХПП, n=23), храни-

ческим сложным (ХСП, n=62) и быстро прогрессирующим (БПП, n=64) периодонтитом, группа сравнения – гингивиты (n=7).

Отработан протокол ИГХ выявления MMP8 с подбором оптимального режима демаскировки антигена (2,5 мин при температуре 125°C в нагреваемой барокамере Pascal (DAKO, Дания) в буфере pH 9,0), разведения первичных моноклональных кроличьих антител к MMP-8 (клон EP1252Y, Abcam, Великобритания, 1:1000), выбором визуализирующей системы (полимерной системы визуализации Rabbit UnoVue™ HRP/DAB Detection System (DIAGNOSTIC BIOSYSTEMS, США), времени экспозиции хромогена (рис. 1А). В качестве хромогена использовался диаминобензидин (DAKO, Дания), в качестве контрокрашивания – гематоксилин Майера. Позитивным контролем выступали ткани и органы, рекомендованные производителем, негативным – исключение первичного антитела. Дальнейшему анализу подвергались препараты с отсутствием ИГХ реакции в негативном контроле.

В рамках морфометрического исследования производилась съемка гистологических препаратов в 4-6 случайных непересекающихся полях зрения (объектив 20) с последующей оценкой ИГХ реакции в строге десны с использованием программного обеспечения для морфометрии Aperio Image Scope v 9.0. В процессе программного анализа экспрессии MMP8 в ткани десны интенсивность коричневой окраски (продуктов реакции ДАБ-хромогена) измерялась Aperio Image Scope автоматически и разделялась на 3 уровня интенсивности и негативную реакцию. Результат программной оценки интенсивности экспрессии имел обратную взаимосвязь с данными визуальной оценки.

Для анализа исследуемых групп по характеру экспрессии MMP8 с использованием программы Aperio Image Scope рассчитывались следующие параметры (объектив 20):

- позитивность (отношение числа позитивных пикселей к общему числу позитивных и негативных пикселей $\times 100\%$),
- индекс интенсивности в иммунопозитивных участках (отношение суммы интенсивностей пикселей с высокой, средней, низкой интенсивностью к числу позитивных пикселей),
- общий индекс интенсивности ИГХ реакции (отношение суммы интенсивностей негативных и позитивных пикселей к общему числу позитивных и негативных пикселей).

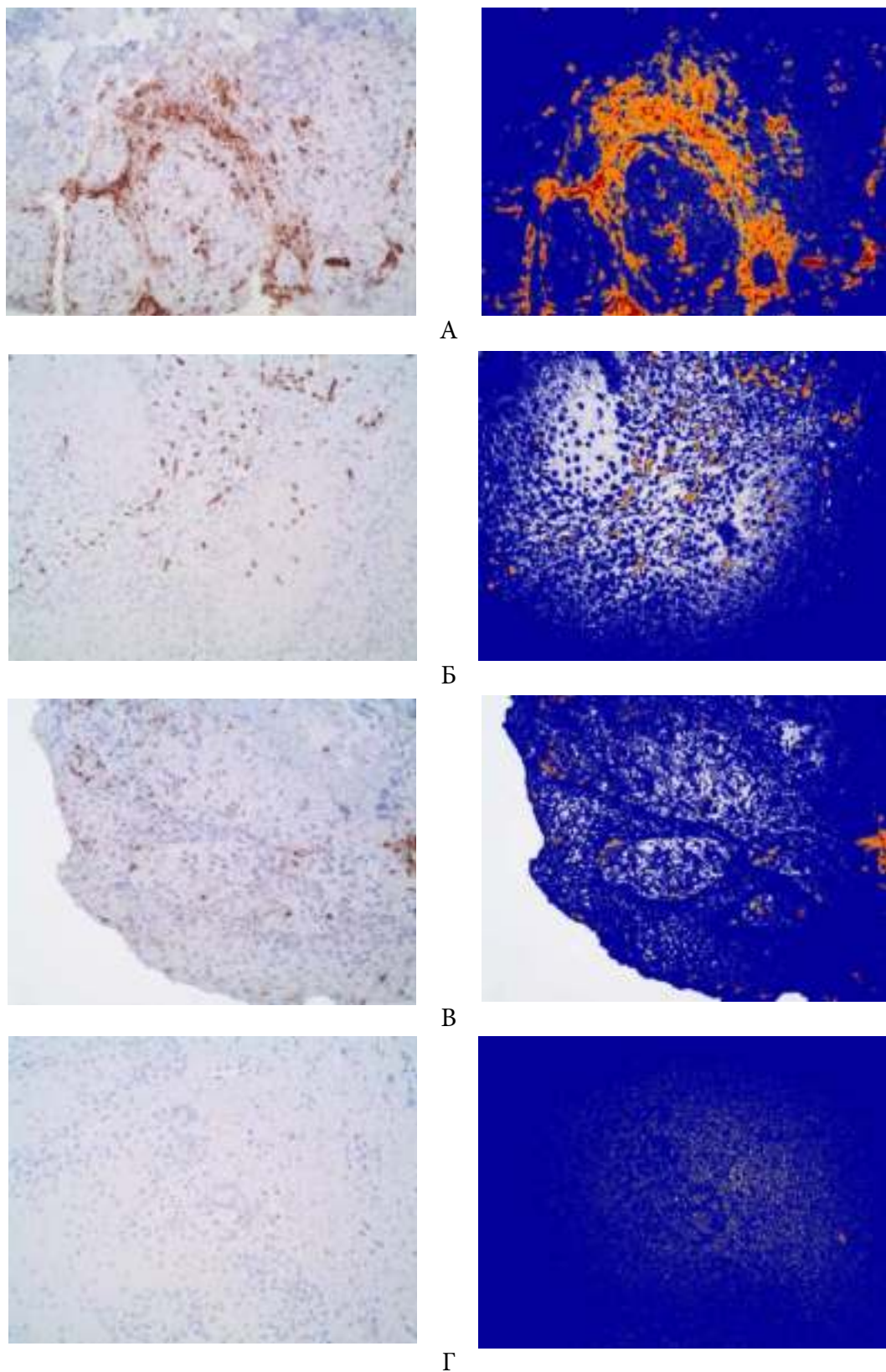


Рисунок 1 – Иммуногистохимическое окрашивание с антителами к MMP8, x200 (хромоген – DAB, контрокрасивание гематоксилином Майера) и результат работы алгоритма «positive pixel count» программы Aperio Image Scope. Характер экспрессии MMP8 в биопсийном материале десны в группах пациентов с признаками: А – гингивита, Б – быстро прогрессирующего, В – хронического простого, Г – хронического сложного периодонтитов.

Статистический анализ данных проводился с использованием программного обеспечения STATISTICA 10.0 с вычислением медианы (Me), интерквартильного (25% и 75% процентиля) и 95% доверительного интервалов (ДИ), максимального и минимального значения. Для оценки характера распределения полученных данных использовался критерий Шапиро-Уилка (W). Сравнение независимых выборок по количественным признакам проводилось с использованием дисперсионного анализа непараметрических данных ANOVA и определением критериев Краскела-Уоллиса (H-критерий) для 3-х и более выборок и Манна-Уитни (U-критерий) с целью парного сравнения выборок. Корреляционные взаимосвязи между анализируемыми признаками вычислялись с использованием рангового коэффициента корреляции непараметрических данных Спирмена (ρ). Уровень статистической значимости устанавливался $p < 0,05$.

Результаты

В рамках морфологического исследования биопсийного материала десен пациентов с различными формами периодонтитов учитывались такие параметры, как наличие поражения эпителия (в виде изъязвления, десквамации, гидропической дистрофии, акантоза, межэпителиальных лейкоцитов), изменения в сосочковом и сетчатом слое десны (в виде сохранности, разрушения или гипертрофии коллагеновых волокон, наличия кровоизлияний, воспалительной инфильтрации с преобладанием сегментоядерных лейкоцитов и с преобладанием мононуклеарной инфильтрации) с ранговой оценкой признаков, однако статистически значимых различий между исследуемыми группами выявлено не было.

Экспрессия MMP8 имела место во всех исследуемых случаях в виде цитоплазматического окрашивания клеток воспалительного инфильтрата и очагово фибробластов как в группе пациентов с признаками гингивитов, так и в группах быстро прогрессирующего и хронических форм периодонтитов (рис. 1). При этом выявлена прямая взаимосвязь позитивности ($\rho = 0,59$) и интенсивности ($\rho = 0,52$) стромальной экспрессии MMP8 с вовлеченностью эпителиального компонента в процесс воспаления.

Согласно полученным результатам (рис. 2), наибольшая вариабельность с максимальной позитивностью экспрессии MMP8 до 83% была

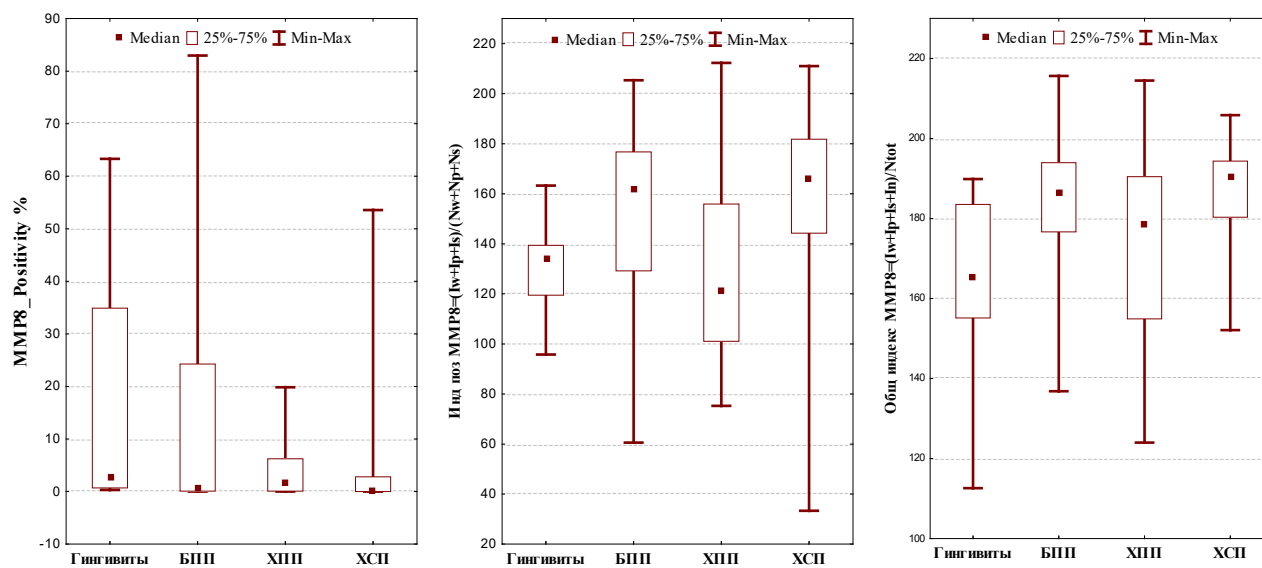
выявлена в группе пациентов с быстро прогрессирующим периодонтитом, до 63% и 54% варьировала площадь экспрессии MMP8 в группе сравнения и хронического сложного периодонтита и не превышала 20% в группе хронического простого периодонтита, однако различия групп по «hot points» были статистически незначимы. Комплексная же оценка биопсийного материала в 4-6 случайных полях зрения в каждом случае показала несколько иные результаты с наибольшей позитивностью экспрессии MMP8 в группе пациентов с признаками гингивита, уменьшением площади экспрессии при различных формах периодонтита и наименьшими значениями в группе хронического сложного периодонтита.

При этом в группе пациентов с быстро прогрессирующим периодонтитом площадь экспрессии MMP8 не имела статистически значимых различий с таковой в группе хронического простого периодонтита, но была значимо большей, чем в группе хронического сложного периодонтита.

Анализ интенсивности экспрессии MMP8 показал, что наибольшая вариабельность от слабой до выраженной с максимальной интенсивностью позитивных пикселей до 33 и 61 отмечалась в группах пациентов с хроническим сложным и быстро прогрессирующим периодонтитами. В группах же пациентов с признаками гингивитов и хронического простого периодонтита интенсивность экспрессии MMP8 в иммунопозитивных участках изменялась в меньшей степени (от умеренно выраженной до выраженной) и не превышала 96 и 75 единиц соответственно. Дисперсионный анализ «hot points» также, как и с показателем позитивности экспрессии, не выявил статистически значимых различий между исследуемыми группами. Анализ же индекса интенсивности экспрессии MMP8 при комплексной оценке 4-6 случайных полей зрения в каждом случае в иммунопозитивных участках (рис. 2) и общего индекса интенсивности (рис. 2) выявил наибольшие показатели интенсивности экспрессии MMP8 в группах пациентов с признаками гингивита и хронического простого периодонтита и наименьшие в группах пациентов с быстро прогрессирующим и хроническим сложным периодонтитом, которые не имели значимых различий по данному показателю.

Обсуждение

Полученные в ходе исследования результа-



А

	Группа сравнения	БПП	ХПП	ХСП
Позитивность экспрессии MMP8				
Me (25-75%)	2,72 (0,7-34,9)	0,55 (0,07-24,3)	1,93 (0,08-6,2)	0,09 (0-2,8)
Группа сравнения		p=0,057	p=0,14	p=0,004*
БПП			p=0,87	p=0,002*
ХПП				p=0,048*
Индекс интенсивности экспрессии MMP8 в иммунопозитивных участках				
Me (25-75%)	126 (105-151)	160 (118-178)	101 (97-116)	147 (130-176)
Группа сравнения		p=0,039*	p=0,018*	p=0,033*
БПП			p<0,001*	p=0,75
ХПП				p<0,001*
Общий индекс интенсивности экспрессии MMP8				
Me (25-75%)	158 (135-166)	185 (176-190)	159 (142-178)	185 (178-194)
Группа сравнения		p<0,001*	p=0,84	p<0,001*
БПП			p<0,001*	p=0,25
ХПП				p<0,001*

Б

Рисунок 2 – Дисперсионный анализ показателей экспрессии MMP8 в биопсийном материале десен в группах пациентов с различным клиническим течением периодонтитов (А – Краскела-Уоллиса, Б – Манна-Уитни).

ты по показателям наибольшей позитивности и интенсивности экспрессии MMP8 в биопсийном материале в группах быстропрогрессирующего и хронического сложного периодонтитов согласуются с литературными данными, в которых показана взаимосвязь уровней MMP8 с тяжестью и характером течения периодонтита [8-11], увеличением глубины периодонтального кармана, кровоточивостью при зондировании, утерей эпителиального прикрепления [12], прогрессирующим разрушением коллагеновых волокон десневой и периодонтальной связки [13] и степенью повреждения альвеолярного отростка при пери-

одонтитах [14]. В то же время в рамках комплексного анализа биопсийного материала пациентов с различными формами периодонтитов нами получены новые данные о том, что при увеличении анализируемых полей зрения, в большей степени отражающих истинную картину экспрессии MMP8, распределение показателей позитивности и интенсивности экспрессии и их медиан в вышеуказанных группах с тяжелым и агрессивным течением оказалось наименьшим, но значимым как для дифференциальной диагностики, так и для определения характера течения периодонтитов на этапе манифестации заболевания.

Заключение

Выявленные особенности экспрессии MMP8 с учетом показателей позитивности и интенсивности экспрессии можно использовать как дополнительный дифференциально-диагностический признак между изученными формами периодонтитов и фактором прогноза течения периодонтита на стадии манифестации заболевания. Согласно полученным результатам, с целью дифференциальной диагностики быстропрогрессирующего периодонтита с хроническим сложным наиболее информативным показателем можно считать площадь экспрессии маркера (которая в группе хронического сложного периодонтита имеет значимо меньшие показатели) с сопоставимой между группами интенсивностью экспрессии, а с хроническим простым периодонтитом – интенсивность экспрессии (которая имеет значимо более высокие показатели в группе хронического простого периодонтита) при сопоставимой между группами площади экспрессии данного маркера.

Работа выполнена в рамках проекта «Разработать и внедрить метод диагностики быстропрогрессирующего периодонтита, основанный на определении в тканях периодонта матричных металлопротеиназ» подпрограммы «Внутренние болезни» ГНТП «Новые технологии диагностики, лечения и профилактики» ГР №20180436.

The research work was conducted within the frames of the project «To elaborate and introduce into practice the method of diagnosing of rapidly progressive periodontitis on the basis of the determination of matrix metalloproteinases in the periodontium tissues», the subprogram «Internal medicine» of the SSTP «New technologies of diagnosing, treatment and prevention», SR №20180436.

Литература

1. Albandar, J. M. Aggressive periodontitis: case definition and diagnostic criteria / J. M. Albandar // Periodontol. 2000. – 2014 Jun. – Vol. 65, N 13. – P. 13–26.
2. Role of salivary matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) in chronic periodontitis diagnosis / N. Gupta [et al.] // Front. Med. – 2015 Mar. – Vol. 9, N 1. – P. 72–76.
3. The influence of smoking on the levels of matrix metalloproteinase-8 and periodontal parameters in smoker and nonsmoker patients with chronic periodontitis: A clinicobiochemical study / N. Gupta [et al.] // J. Oral. Biol. Craniofac. Res. – 2016 Nov. – Vol. 6, suppl. 1. – P. S39–S43.
4. Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) in pulpal and periapical inflammation and periapical root-canal exudates / J. Wahlgren [et al.] // Int. Endod. J. – 2002 Nov. – Vol. 35, N 11. – P. 897–904.
5. Salivary matrix metalloproteinase (MMP)-8 as a biomarker for periodontitis: a PRISMA-compliant systematic review / L. Zhang [et al.] // Medicine (Baltimore). – 2018 Jan. – Vol. 97, N 3. – e9642.
6. Kessenbrock, K. Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment / K. Kessenbrock, V. Plaks, Z. Werb // Cell. – 2010 Apr. – Vol. 141, N 1. – P. 52–67.
7. Sorsa, T. Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases / T. Sorsa, L. Tjäderhane, T. Salo // Oral. Dis. – 2004 Nov. – Vol. 10, N 6. – P. 311–318.
8. Collagenase-2 (MMP-8) as a point-of-care biomarker in periodontitis and cardiovascular diseases. Therapeutic response to non-antimicrobial properties of tetracycline / T. Sorsa [et al.] // Pharmacol. Res. – 2011 Feb. – Vol. 63, N 2. – P. 108–113.
9. Salivary biomarkers of bacterial burden, inflammatory response, and tissue destruction in periodontitis / A. Salminen [et al.] // J. Clin. Periodontol. – 2014 May. – Vol. 41, N 5. – P. 442–450.
10. Salivary biomarkers of oral health: a cross-sectional study / N. Rathnayake [et al.] // J. Clin. Periodontol. – 2013 Feb. – Vol. 40, N 2. – P. 140–147.
11. Salivary biomarkers of existing periodontal disease: a cross-sectional study / C. S. Miller [et al.] // J. Am. Dent. Assoc. – 2006 Mar. – Vol. 137, N 3. – P. 322–329.
12. Full-mouth profile of active MMP-8 in periodontitis patients / M. Kraft-Neumärker [et al.] // J. Periodontol. Res. – 2012 Feb. – Vol. 47, N 1. – P. 121–128.
13. Microfluidic immunoassays as rapid saliva-based clinical diagnostics / A. E. Herr [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2007 Mar. – Vol. 104, N 13. – P. 5268–5273.
14. Salivary type I collagen degradation end-products and related matrix metalloproteinases in periodontitis / U. K. Gursoy [et al.] // J. Clin. Periodontol. – 2013 Jan. – Vol. 40, N 1. – P. 18–25.

Поступила 25.06.2019 г.

Принята в печать 27.09.2019 г.

References

1. Albandar JM. Aggressive periodontitis: case definition and diagnostic criteria. Periodontol 2000. 2014 Jun;65(1):13-26. doi: 10.1111/prd.12014
2. Gupta N, Gupta ND, Gupta A, Khan S, Bansal N. Role of salivary matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) in chronic

periodontitis diagnosis. Front Med. 2015 Mar;9(1):72-6. doi: 10.1007/s11684-014-0347-x

3. Gupta N, Gupta ND, Goyal L, Moin S, Khan S, Gupta A, et al. The influence of smoking on the levels of matrix metalloproteinase-8 and periodontal parameters in smoker and nonsmoker patients with chronic periodontitis: A clinicobiochemical study. J Oral Biol Craniofac Res. 2016

- Nov;6(Suppl 1):S39-S43. doi: 10.1016/j.jobcr.2015.08.004
4. Wahlgren J, Salo T, Teronen O, Luoto H, Sorsa T, Tjäderhane L. Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) in pulpal and periapical inflammation and periapical root-canal exudates. *Int Endod J*. 2002 Nov;35(11):897-904. doi: 10.1046/j.1365-2591.2002.00587.x
5. Zhang L1, Li X2, Yan H1, Huang L. Salivary matrix metalloproteinase (MMP)-8 as a biomarker for periodontitis: a PRISMA-compliant systematic review. *Medicine (Baltimore)*. 2018 Jan;97(3):e9642. doi: 10.1097/MD.00000000000009642
6. Kessenbrock K, Plaks V, Werb Z. Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment. *Cell*. 2010 Apr;141(1):52-67. doi: 10.1016/j.cell.2010.03.015
7. Sorsa T, Tjäderhane L, Salo T. Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. *Oral Dis*. 2004 Nov;10(6):311-8. doi: 10.1111/j.1601-0825.2004.01038.x
8. Sorsa T, Tervahartia T, Leppilahti J, Hernandez M, Gamonal J, Tuomainen AM, et al. Collagenase-2 (MMP-8) as a point-of-care biomarker in periodontitis and cardiovascular diseases. Therapeutic response to non-antimicrobial properties of tetracycline. *Pharmacol Res*. 2011 Feb;63(2):108-13. doi: 10.1016/j.phrs.2010.10.005
9. Salminen A, Gursoy UK, Paju S, Hyvärinen K, Mäntylä P, Buhlin K, et al. Salivary biomarkers of bacterial burden, inflammatory response, and tissue destruction in periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2014 May;41(5):442-50. doi: 10.1111/jcpe.12234
10. Rathnayake N, Akerman S, Klinge B, Lundegren N, Jansson H, Tryselius Y, et al. Salivary biomarkers of oral health: a cross-sectional study. *J Clin Periodontol*. 2013 Feb;40(2):140-7. doi: 10.1111/jcpe.12038
11. Miller CS, King CP Jr, Langub MC, Kryscio RJ, Thomas MV. Salivary biomarkers of existing periodontal disease: a cross-sectional study. *J Am Dent Assoc*. 2006 Mar;137(3):322-9. doi: 10.14219/jada.archive.2006.0181.
12. Kraft-Neumärker M, Lorenz K, Koch R, Hoffmann T, Mäntylä P, Sorsa T, et al. Full-mouth profile of active MMP-8 in periodontitis patients. *J Periodontol Res*. 2012 Feb;47(1):121-8. doi: 10.1111/j.1600-0765.2011.01416.x
13. Herr AE, Hatch AV, Throckmorton DJ, Tran HM, Brennan JS, Giannobile WV, Singh AK. Microfluidic immunoassays as rapid saliva-based clinical diagnostics. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007 Mar;104(13):5268-73. doi: 10.1073/pnas.0607254104
14. Gursoy UK, Könönen E, Huuonen S, Tervahartia T, Pussinen PJ, Suominen AL, et al. Salivary type I collagen degradation end-products and related matrix metalloproteinases in periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2013 Jan;40(1):18-25. doi: 10.1111/jcpe.12020

Submitted 25.06.2019

Accepted 27.09.2019

Сведения об авторах:

Казеко Л.А. – к.м.н., доцент, заведующая 1-й кафедрой терапевтической стоматологии, Белорусский государственный медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0821-0366>;

Захарова В.А. – к.м.н., доцент кафедры патологической анатомии, Белорусский государственный медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2050-9800>;

Анфиногенова Е.А. – к.м.н., доцент кафедры патологической анатомии, Белорусский государственный медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2696-1374>;

Черствый Е.Д. – д.м.н., профессор кафедры патологической анатомии, Белорусский государственный медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2554-1431>.

Information about authors:

Kazeko L.A. – Candidate of Medical Sciences, associate professor, head of the Chair of Restorative Dentistry No.1, Belarusian State Medical University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0821-0366>;

Zakharava V.A. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Pathologic Anatomy, Belarusian State Medical University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2050-9800>;

Anfinogenova E.A. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Pathologic Anatomy, Belarusian State Medical University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2696-1374>;

Cherstvoy E.D. – Doctor of Medical Sciences, professor of the Chair of Pathologic Anatomy, Belarusian State Medical University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2554-1431>.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 220116, г. Минск, пр. Дзержинского, д. 83, Белорусский государственный медицинский университет, 1-я кафедра терапевтической стоматологии. E-mail: 1kaf.terstom@gmail.com – Казеко Людмила Анатольевна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 220116, Minsk, 83 Dzerzhinskogo ave., Belarusian State Medical University, Chair of Restorative Dentistry No.1. E-mail: 1kaf.terstom@gmail.com –Lyudmila A. Kazeko.

ХРОМАТОДЕНСИТОМЕТРИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЛИСТЬЕВ БРУСНИКИ ОБЫКНОВЕННОЙ (*VACCINIUM VITIS-IDAEA* L.)

ВЕРНИГорова М.Н., Бузук Г.Н.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2019. – Том 18, №5. – С. 107-113.

CHROMATODENSITOMETRIC STUDY OF THE COMMON LINGONBERRY LEAVES (*VACCINIUM VITIS-IDAEA* L.)

VERNIGOROVA M.N., BUZUK G.N.

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2019;18(5):107-113.

Резюме.

Проанализированы листья брусники обыкновенной, заготовленные в местах естественного произрастания в окрестностях г. Витебска Республики Беларусь. С помощью хроматоденситометрического способа изучались условия проведения хроматоденситометрического определения арбутина в листьях брусники. Подобраны система растворителей, концентрация реагента-проявителя (реактив Гиббса) для хроматоденситометрического способа определения арбутина в листьях брусники обыкновенной. Изучен характер зависимости цветометрических характеристик пятен арбутина от его количества в хроматографической зоне. Выявлена линейная зависимость цветометрических характеристик зон арбутина от его количества в хроматографической зоне. Было проведено сравнение хроматоденситометрического способа определения арбутина в листьях брусники с методом ВЭЖХ. Установлено, что результаты ВЭЖХ сопоставимы с результатами хроматоденситометрического способа определения арбутина в листьях брусники обыкновенной, что дает основание сделать вывод о достаточно высокой точности хроматоденситометрического способа и делает возможным его применение для качественного и количественного определения арбутина в листьях брусники. Изучались различные условия экстракции арбутина из листьев брусники обыкновенной. Построены графики зависимости полноты экстракции арбутина из листьев брусники обыкновенной при различных условиях экстракции. Подобраны оптимальные условия экстракции арбутина (степень измельченности листьев брусники – 2 мм, время экстракции – 40 минут, экстрагент – вода).

Ключевые слова: *Vaccinium vitis-idaea* L., брусника обыкновенная, арбутин, листья, ВЭЖХ, хроматоденситометрический способ, хроматографическая зона, хроматограмма, цветометрические характеристики, условия экстракции, измельченность, время экстракции, экстрагент, реактив Гиббса, площадь пятна, пиксели, линейная зависимость, количественное определение, качественное определение.

Abstract.

The leaves of common lingonberry harvested in the places of its natural growth in the vicinity of the city of Vitebsk of the Republic of Belarus have been analyzed using the chromatodensitometric method. The conditions of the chromatodensitometric method use for determining arbutin in the common lingonberry leaves have been studied. The solvent system, the concentration of the reagent- developer (Gibbs reagent) for the chromatodensitometric method used to determine arbutin in the common lingonberry leaves have been selected. The character of the dependence of the colorimetric characteristics of arbutin spots on its quantity in the chromatographic zone has been studied. A linear dependence of the colorimetric characteristics of arbutin zones on its quantity in the chromatographic zone has been revealed. The chromatodensitometric method of the determination of arbutin in the common lingonberry leaves has been compared to that of HPLC. It has been established that the HPLC results are comparable with those obtained by means of the chromatodensitometric method of determining arbutin in the common lingonberry leaves, which gives grounds to conclude that the chromatodensitometric method is rather accurate and may be used for the quantitative and qualitative

determination of arbutin in the common lingonberry leaves. Various conditions for the extraction of arbutin from the leaves of common lingonberry have been studied. The graphs of the dependence of the completeness of the common lingonberry leaves arbutin extraction under various extraction conditions have been constructed. Optimal conditions for the extraction of arbutin have been selected (the degree of crushing the lingonberry leaves – 2 mm, extraction time – 40 minutes, the extractant – water).

Key words: *Vaccinium vitis-idaea L., common lingonberry, arbutin, leaves, HPLC, chromatodensitometric method, chromatographic zone, chromatogram, colorimetric characteristics, extraction conditions, grinding, extraction time, extractant, Gibbs reagent, spot area, pixels, linear dependence, quantitative determination, qualitative determination.*

За последние годы существенно возрос интерес к лекарственным средствам растительного происхождения. Технология производства препаратов на основе лекарственного растительного сырья является финансово более выгодной. Фитопрепараты в большей степени безопасны в сравнении с химически модифицированными аналогами.

Брусника – невысокий (до 20 см) кустарник семейства брусничных, с ползучим, тонким корневищем. Листья очередные, эллиптические. На нижней стороне листа имеются черные точечные железки. Цветки белого или розового цвета, собраны в густые, поникшие кисти. Плоды красные, имеют круглую форму, по типу плода – многосемянные ягоды. Цветет брусника в конце весны – начале лета, плоды созревают в августе-сентябре. Растет в основном в лиственных и хвойных лесах, образуя местами сплошные заросли. В качестве лекарственного сырья используют листья. Листья заготавливают в два срока – ранней весной до начала цветения растения, а также после созревания плодов. Листья брусники содержат фенолы и их производные: арбутин, метиларбутин, β -D-глюкозид гидрохинона, пирозид (6-ацетиларбутин), 2-O-кофеиларбутин, гидрохинон, вакцинин, салидрозид (0.015%); флавоноиды: кемпферол, кверцетин, 3-D-глюкозил-L-рамнозид кверцетина, изокверцитрин, рутин, 3-L-рамнозид кемпферола, 3-D-глюкозид кемпферола, авикулярин, гиперозид, гвайяверин, 3-O- β -D-галактопиранозид лютеолина, 3-O- β -D-глюкопиранозид лютеолина, 4'-O-ацетилкверцетин, (+)-катехин, (-)-эпикатехин, (+)-галлокатехин; дубильные вещества: гидролизуемые (циннамтанин B1), конденсированные (проантоцианидин A1); фенолкарбоновые кислоты: хлорогеновая, кофейная, изохлорогеновая, неохлорогеновая, феруловая, о-пирокатеховая, галловая, хинная, эллаговая.

Брусника – довольно часто используемое растение в медицине. Известны различные

эффекты, оказываемые брусникой на организм человека. Листья брусники являются официальным лекарственным растительным сырьем, оказывают дезинфицирующее и мочегонное действие, применяются при камнях в почках, подагре, пиелонефрите, цистите. Антибактерицидное действие обусловлено арбутином и метиларбутином. Под действием микрофлоры кишечника арбутин и метиларбутин разрушаются на гидрохинон и гидрохинон метила. Именно гидрохинон обуславливает фармакологические эффекты листьев брусники. Производные гидрохинона оказывают антисептический и вяжущий эффекты на слизистые оболочки мочевого пузыря. Разрушение гидрохинона происходит в почках, продукты разложения выводятся с мочой.

Стандартизацию листьев брусники проводят по арбутину. Используют несколько методов количественного определения арбутина. Количественное определение арбутина можно проводить с использованием фотоколориметрического метода (образование азокрасителя после взаимодействия арбутина с диазотированным сульфаниламидом [1], метода ВЭЖХ, а также спектрофотометрическим методом (измерение оптической плотности в видимой области спектра после получения антипиринового красителя [2]) или спектрофотометрического метода определения после очистки извлечения на колонке с алюминия оксидом, методом спектрофотометрии с использованием гидрохинона в качестве стандарта [4] и хроматоспектрофотометрическим методом, основанным на применении оксида алюминия для очистки арбутина от сопутствующих веществ [3]. Также существует метод количественного определения арбутина с помощью йодометрического титрования [5].

В фармакопее ГФ РБ предложено два способа количественного определения арбутина: титрование раствором иода в присутствии крахмала после осаждения балластных и сопутствующих веществ с помощью основного ацетата свинца

и экстракционная спектрофотометрия с использованием аминопиразолона. Однако оба способа достаточно длительные.

Для качественного и количественного анализа действующих веществ из лекарственного растительного сырья все чаще используются экспрессные методики т.к. они требуют меньших временных и финансовых затрат. Одной из экспрессных методик является способ хромато-денситометрии применительно к анализу лекарственного растительного сырья. Денситометрия (от лат. *densitas* – плотность) дословно означает «измерение плотности». Суть способа видеоденситометрии заключается в измерении интенсивности цвета (его плотности) изучаемого объекта (в нашем случае экстракта листьев брусники) относительно количественного и качественного содержания вещества, дающего окраску. Нами впервые предложен более экспрессный и доступный метод определения арбутина в листьях брусники с использованием хромато-денситометрического способа.

Материал и методы

Объектом исследования были выбраны листья брусники, заготовленные в апреле 2011 г. в местах естественного произрастания. Образцы высушивали в тени при комнатной температуре. Образцы листьев брусники хранили в бумажных пакетах при комнатной температуре.

Определение оптимальных условий экстракции арбутина проводили по разработанной методике, включающей экстракцию арбутина из растительного сырья, тонкослойную хроматографию очищенного экстракта, проявление хроматограммы реактивом Гиббса, преобразование хро-

матограммы в цифровое изображение, обработку цифрового изображения с помощью программы Imagej.

Эффективность экстракции определяли по площадям пиков хроматографических зон арбутина, полученных на хроматограмме.

На втором этапе был изучен характер зависимости цветометрических характеристик пятен арбутина от его количества в хроматографической зоне. Для этого была получена и проявлена хроматограмма с нанесенными экстрактами брусники в количестве от 1 мкл до 8 мкл. После нанесения всех экстрактов хроматограмму высушивали, помещали в стеклянную камеру с системой (этилацетат : метанол : вода, 10:1,35:1), погружали в реактив Гиббса (0,5% метанольный раствор 2,6-дихлорогуинон-4-хлоримида), затем на несколько секунд погружали хроматограмму в пары аммиака после чего оставляли на 30 минут до появления синей окраски пятен арбутина. Хроматографические зоны арбутина проявлялись в виде полосок синего цвета. Затем хроматограмму сканировали. В работе применяли сканер марки EPSON Perfection 1270 в режиме цветного сканирования и разрешении 300 dpi. Полученное изображение обрабатывали с помощью программы Imagej.

На полученной денситограмме хорошо прослеживается зависимость высоты и площади пиков интенсивности окраски (отражающей способности) пятен арбутина от его количества в хроматографической зоне (рис. 1).

По результатам эксперимента был построен калибровочный график зависимости площади (в пикселах) пиков окраски пятен арбутина от его количества в хроматографической зоне (рис. 2).

На рисунке 2 наблюдается линейная зависимость между площадью пиков окраски пятен

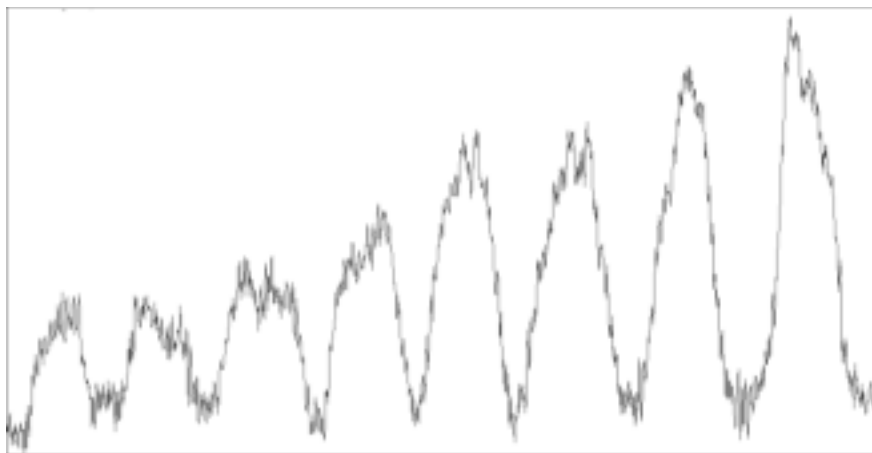


Рисунок 1 – Денситограмма экстрактов брусники.

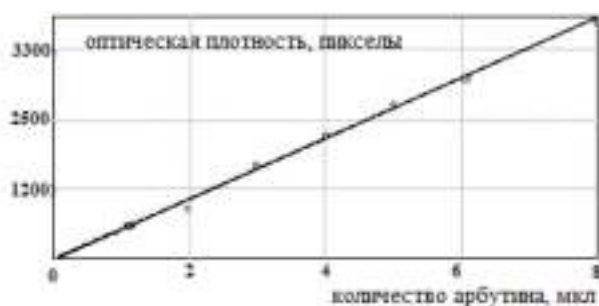


Рисунок 2 – График зависимости площади пятна (в пикселях) от количества арбутина в хроматографической зоне.

арбутина и его количества в хроматографической зоне. Уравнение калибровочного графика:

$$Y = a + bX = 1027,8 + 1153,9X (R^2=0,995)$$

Полученные результаты позволяют использовать этот способ для количественного определения арбутина в экстракте листьев брусники.

Далее изучалась сопоставимость хромато-денситометрии со стандартными методиками. Для этого нами для анализа были взяты листья брусники, заготовленные в 2009 г., 2010 г. и 2011 г. в местах естественного произрастания.

Как метод сравнения для определения арбутина нами был использован метод ВЭЖХ. На первом этапе исследования количественное определение арбутина в трех образцах листьев брусники проводили методом ВЭЖХ. К навеске сырья (0,1 г) прибавляли 5 мл дистиллированной воды. Для экстракции использовали водяную баню. Длительность экстракции составляла 40 минут. К горячему экстракту прибавляли основной ацетата свинца (0,1 г). Центрифугировали в течение 5 минут при 2000 об/мин. Надосадочную жидкость помещали в чистую емкость. Затем определяли содержание арбутина в образцах листьев брусники на жидкостном хроматографе фирмы Agilent HP 1100. Определение проводили на хроматографической колонке Zorbax StableBondC-18 250×4,6 мм, с размером частиц 5 мкм, при температуре колонки 30°. 0,01 М калия дигидрофосфат (значение pH=3,0±0,2 создается при помощи фосфорной кислоты Р) и ацетонитрил для хроматографии использовали в качестве подвижной фазы, скорость подачи подвижной фазы 1 мл/мин, объем пробы 25 мкл. Измерение проводили при длине волны 280 нм [6]. В качестве стандарта использовали стандартный раствор арбутина производителя Sigma.

Готовый экстракт и стандарт арбутина в количестве 3 мкл капилляром наносили на хро-

матографическую пластинку в виде пятна. Пластинку с нанесенным экстрактом и стандартом помещали в камеру с системой (этилацетат : метанол : вода, 10:1,35:1). Стандартный раствор арбутина готовили растворением 50 мг арбутина в 100 мл дистиллированной воды.

После хроматографирования пластинку высушивали и затем погружали в реактив Гиббса (0,5% метанольный раствор 2,6-дихлорогуинон-4-хлоримида). Затем пластинку помещали в пары аммиака и на 30 минут оставляли высохнуть до появления хроматографических зон синего цвета. Полученную хроматограмму сканировали и обрабатывали, используя компьютерную программу Imagej. Содержание арбутина определяли по площадям пиков хроматографических зон экстракта в пересчете на содержание арбутина в хроматографической зоне стандарта.

Далее определялась оптимальная степень измельченности листьев брусники для эффективной экстракции арбутина. Экстракты готовили в соотношении 0,1:5 – сырье : экстрагент соответственно. Степень измельчения сырья варьировала от 0,5 до 3,0 мм. В качестве экстрагента использовалась вода. Условия экстракции и приготовления экстракта, а также обработки хроматограмм полностью соответствовали условиям эксперимента по сопоставлению результатов ВЭЖХ и хромато-денситометрии.

Оптимальное время экстракции подбирали путем экстрагирования биологически активных веществ из листьев брусники в 5 пробах в течение 20, 40, 60, 80, 100 мин соответственно. Условия экстракции и приготовления экстракта, а также обработки хроматограмм полностью соответствовали условиям эксперимента по подбору оптимальной степени измельченности листьев.

Также нами подбирался экстрагент для оптимального извлечения арбутина из брусники листьев. Для этого использовали воду очищенную и этиловый спирт в 7 концентрациях (10%, 30%, 40%, 50%, 70%, 80% и 96%).

Результаты и обсуждение

Для расчета содержания арбутина хромато-денситометрическим способом в 3-х образцах листьев брусники на хроматографическую пластинку был нанесен стандартный раствор арбутина и три экстракта в количестве 3 мкл. После обработки хроматограммы реактивом Гиббса арбутин проявился в виде окрашенных в синий

цвет хроматографических зон (рис. 3).

Формула расчета содержания арбутина в процентах в листьях брусники:

$$X = \frac{S_x \times C \times 0,5}{S_a \times m},$$

где:

X – содержание арбутина (мг) в исследуемом экстракте;

Sx – площадь пика пятна исследуемого экстракта;

C – содержание арбутина в растворе сравнения, мг/мл;

Sa – площадь пика пятна стандартного раствора арбутина;

m – масса навески испытуемого сырья, г.

1-й образец листьев брусники: Sa=36035, Sb=15898

$$X = 36035 \times 0,5 \times 0,5 / 15898 \times 0,1 = 5,7\%$$

2-й образец листьев брусники: Sa=43348, Sb=15898

$$X = 43348 \times 0,5 \times 0,5 / 15898 \times 0,1 = 6,8\%$$

3-й образец листьев брусники: Sa=36036, Sb=15898

$$X = 36036 \times 0,5 \times 0,5 / 15898 \times 0,1 = 5,6\% \text{ (табл. 1)}$$

Данные эксперимента показали, что полученные результаты количественного определения арбутина двумя различными методами существенно не различаются, что дает основание

сделать вывод о достаточно высокой точности хроматоденситометрического способа и делает возможным его применение для качественного и количественного определения арбутина в листьях брусники.

Наиболее эффективная экстракция арбутина происходит при степени измельченности сырья, равной 2 мм (рис. 5, 6).

Оптимальным временем экстракции арбутина из листьев брусники оказалось время 40 минут (рис. 7, 8).

Более полная экстракция арбутина происходит при использовании в качестве экстрагента воды очищенной (рис. 9, 10).

Заключение

1. Разработан хроматоденситометрический способ определения арбутина в листьях брусники обыкновенной.

2. Зависимость цветометрических характеристик зон арбутина от его количества в хроматографической зоне имеет линейный характер.

3. С помощью хроматоденситометрии было обнаружено, что оптимальными условиями экстракции арбутина из листьев брусники обыкновенной являются: степень измельченности листьев брусники – 2 мм, время экстракции – 40 минут, экстрагент – вода.

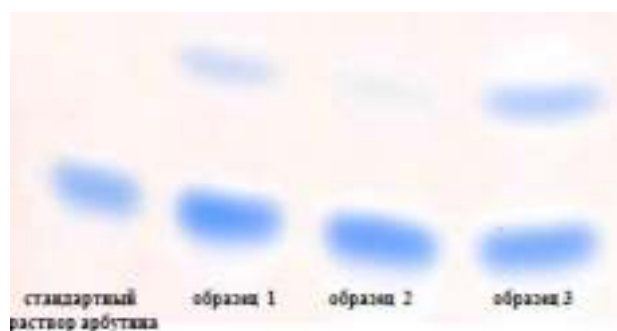


Рисунок 3 – Хроматографические зоны 3-х различных образцов листьев брусники и стандартного образца арбутина.

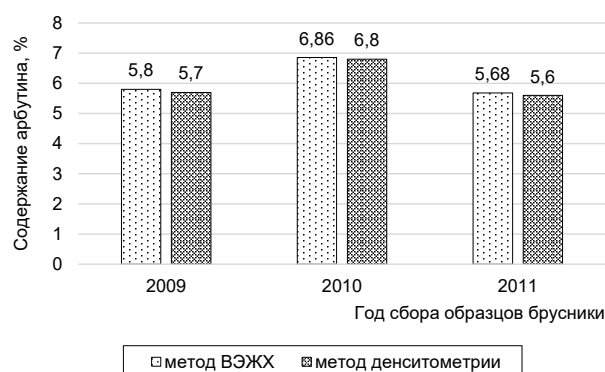


Рисунок 4 – Диаграмма сравнения содержания арбутина в листьях брусники по хроматоденситометрическому способу и методу ВЭЖХ.

Таблица 1 – Содержание арбутина в листьях брусники

Образец листьев брусники (год заготовки)	Содержание арбутина по методу ВЭЖХ	Содержание арбутина по хроматоденситометрическому способу
2009	5,8%	5,7%
2010	6,86%	6,8%
2011	5,68%	5,6%

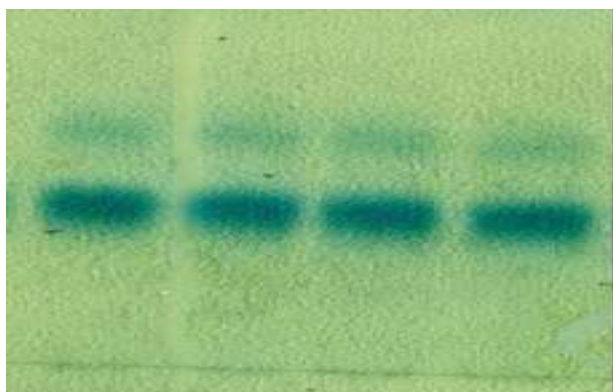


Рисунок 5 – Хроматографические зоны экстрактов листьев брусники с различной степенью измельчения сырья.

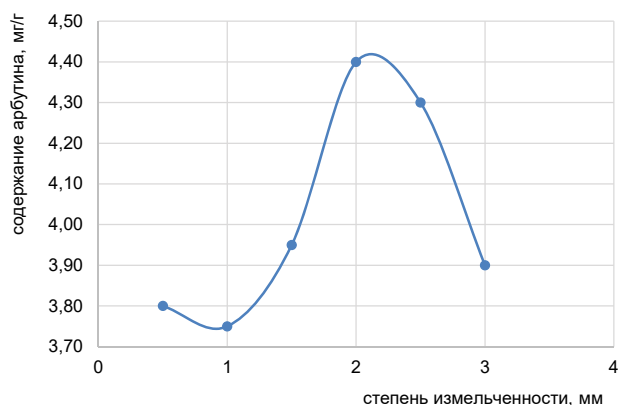


Рисунок 6 – График зависимости экстракции арбутина от степени измельченности сырья.

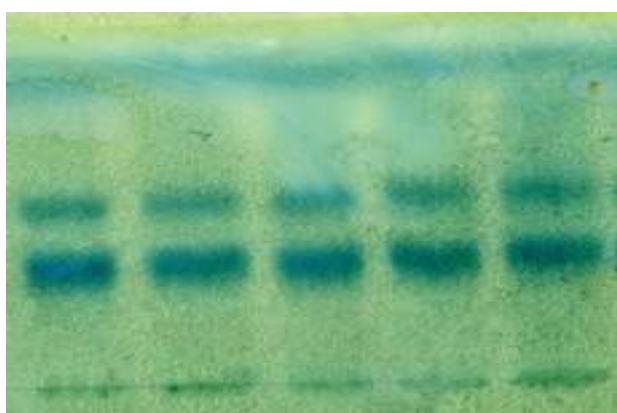


Рисунок 7 – Хроматографические зоны экстрактов из листьев брусники с различным временем экстракции.

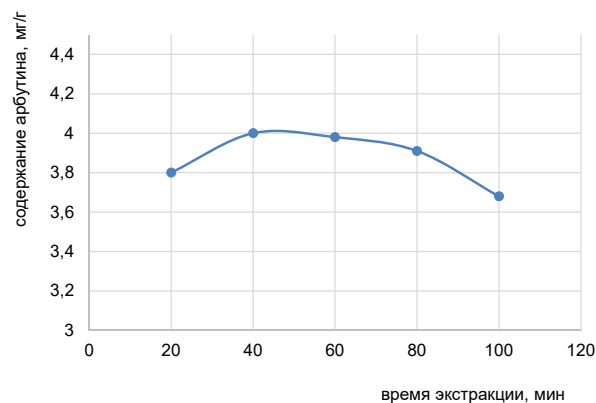


Рисунок 8 – График зависимости экстракции арбутина (%) от времени экстракции.

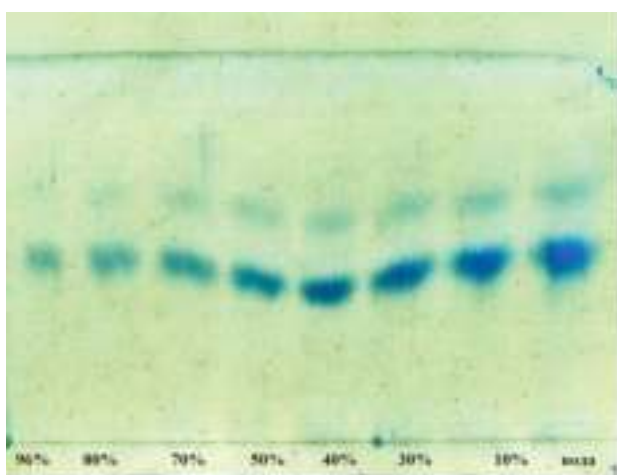


Рисунок 9 – Хроматографические зоны экстрактов из листьев брусники, полученные с использованием различных экстрагентов.

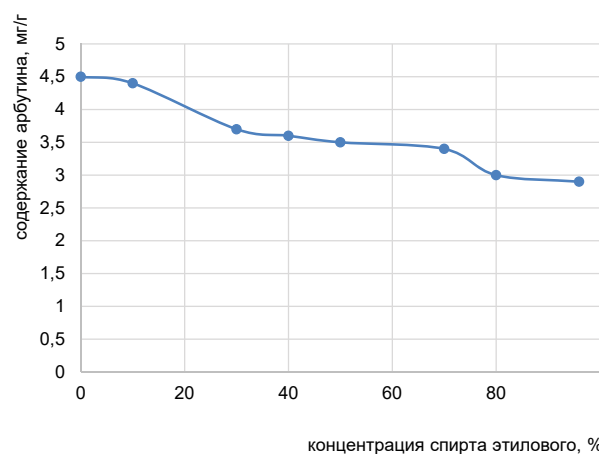


Рисунок 10 – График зависимости экстракции арбутина от экстрагента.

Литература

1. Федосеева, Л. М. Анализ арбутина и надземных вегетативных органов бадана толстолистного (*Bergenia*
2. High-performance liquid chromatographic method of

crassifolia(L.) Fitch.), произрастающего на Алтае / Л. М. Федосеева // Химия раст. сырья. – 2003. – № 1. – С. 73–77.

- separation and quantitative analysis of arbutin in plant tissue cultures/ N. Kittipongpatana [et al.] // CMU. J. Nat. Sci. – 2007. – Vol. 6, N 1. – P. 65–74.
3. Лубсандоржиева, П. Б. Хроматоспектрофотометрическое определение арбутина в листьях *Bergenia crassifolia*(L.) Fitch / П. Б. Лубсандоржиева, Б. С. Жигитов, Т. Д. Даргаева // Хим.-фармацевт. журн. – 2000. – Т. 34, № 5. – С. 14–16.
 4. Способ количественного определения арбутина в лекарственном растительном сырье : а. с. 1582090 СССР, МКИ G 01 N 21/33 / Мазулин А. В., Калошина Н. А., Денисенко О. Н. – № 4433849/29 ; заявл. 31.05.88 ; опубл. 30.07.90, Бюл. № 28.
 5. Брусники листья // Государственная фармакопея Республики Беларусь : (ГФ РБ II). Т. 2 : Контроль качества субстанций для фармацевтического использования и лекарственного растительного сырья / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, РУП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении». – Молодечно : Победа, 2016. – С. 1200–1201.
 6. Вернигорова, М. Н. Определение рутина в цветках бузины черной (*Sambucus nigra* L.) хроматодегситометрическим методом / М. Н. Вернигорова, Г. Н. Бузук // Вестник фармации. – 2014. – № 4. – С. 43–49.

Поступила 28.06.2019 г.

Принята в печать 27.09.2019 г.

References

1. Fedoseeva LM. Analysis of Arbutin and Aboveground Vegetative Organs of Badan Heavy Plate (*Bergenia crassifolia*(L.) Fitch.) growing in Altai. *Khimia Rast Syr'ia*. 2003;(1):73-7. (In Russ.)
2. Kittipongpatana N, Chaiwan A, Pusod U, Kittipongpatana OS. High-performance liquid chromatographic method of separation and quantitative analysis of arbutin in plant tissue cultures. *CMU J Nat Sci*. 2007;6(1):65-74.
3. Lubsandorzhieva PB, Zhigitov BS, Dargaeva TD. Chromatospectrophotometric determination of arbutin in the leaves of *Bergenia crassifolia* (L.) Fitch. *Khim-farmatsevt Zhurn*. 2000;34(5):14-6. (In Russ.)
4. Mazulin AV, Kaloshina NA, Denisenko ON. Method of quantitative determination of arbutin in medicinal herbal raw materials: as 1582090 SSSR, MКИ G 01 N 21/33. № 4433849/29; zaiaavl 31.05.88; opubl 30.07.90, Biul № 28. (In Russ.)
5. Cowberry leaves. M-vo zdravookhraneniia Resp Belarus', RUP «Tsentr ekspertiz i ispytaniia v zdravookhraneniia». Gosudarstvennaia farmakopeia Respubliki Belarus': (GF RB II). T 2: Kontrol' kachestva substansii dlia farmatsevticheskogo ispol'zovaniia i lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ia. Molodechno, RB: Pobeda; 2016. P. 1200-1. (In Russ.)
6. Vernigorova MN, Buzuk GN. Determination of routine in black elderberry flowers (*Sambucus nigra* L.) by chromatodensitometric method. *Vestnik Farmatsii*. 2014;(4):43-9. (In Russ.)

Submitted 28.06.2019

Accepted 27.09.2019

Сведения об авторах:

Вернигорова М.Н. – старший преподаватель кафедры фармакогнозии с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Бузук Г.Н. – д.ф.н., профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

Information about authors:

Vernigorova M.N. – senior lecturer of the Chair of Pharmacognosy with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Buzuk G.N. – Doctor of Pharmaceutical Sciences, professor of the Chair of Pharmacognosy with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра фармакогнозии с курсом ФПК и ПК. E-mail: miv261@yandex.ru – Вернигорова Марина Николаевна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Pharmacognosy with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining. E-mail: miv261@yandex.ru – Marina N. Vernigorova.

ОСОБЕННОСТИ ПРЕПОДАВАНИЯ ОПЕРАТИВНОЙ ХИРУРГИИ И ТОПОГРАФИЧЕСКОЙ АНАТОМИИ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ

АСМОЛОВСКИЙ А.В., ШАМАТКОВА С.В.

Смоленский государственный медицинский университет, г. Смоленск, Российская Федерация

Вестник ВГМУ. – 2019. – Том 18, №5. – С. 114-119.

THE PECULIARITIES OF TEACHING OPERATIVE SURGERY AND TOPOGRAPHIC ANATOMY AT THE PRESENT STAGE

ASMOLOVSKIY A.V., SHAMATKOVA S.V.

Smolensk State Medical University, Smolensk, Russian Federation

Vestnik VGMU. 2019;18(5):114-119.

Резюме.

При старой системе образования современному студенту становится неинтересно, ему трудно мыслить, общаться, анализировать, запоминать и осваивать получаемые медицинские теоретические и практические знания. На одного преподавателя приходится в среднем по 28-30 обучающихся. Кроме того, часто отсутствует согласованность и последовательность изучения медицинских дисциплин в современных учебных планах. Мы предлагаем процесс обучения построить так, чтобы курс топографической анатомии следовал бы сразу за курсом нормальной анатомии и служил мостом к изучению клинических дисциплин; использовать методы дистанционного обучения и контроля полученных знаний для подготовки к текущим занятиям, что позволит освободить время для углубленного разбора изучаемых тем; все занятия проводить только циклами с обязательными виртуальными и реальными секционными курсами; разбирать скелето- и голотопию на основе примеров пропедевтики хирургических и внутренних болезней, а синтопию – на основе решения ситуационных клинических задач. Все сказанное выше позволит существенно повысить интерес у студентов к изучению топографической анатомии и оперативной хирургии, сформировать мотивацию и заложить основы клинического мышления.

Ключевые слова: преподавание, оперативная хирургия, топографическая анатомия, виртуальный секционный курс.

Abstract.

With the use of the old educational system, it is not interesting for a modern student to study; it is difficult for him/her to think, communicate, analyze, memorize and acquire the medical theoretical and practical knowledge imparted. One lecturer has on an average 28-30 students. In addition, there is often a lack of coherence and consistency in the study of medical disciplines in modern curricula. We propose to structure the educational process in such a way that to make the course of topographic anatomy immediately follow the course of normal anatomy and serve as a bridge to the study of clinical disciplines; to use the methods of distance learning and control of the acquired knowledge to prepare for the current classes, which will allow to free time for advanced analysis of the topics studied; to conduct all classes only in cycles with the mandatory virtual and real-time sectional courses; to study the skele - and holotopy based on the examples of propedeutics of surgical and internal diseases, and syntopy – on the basis of situational clinical tasks solving. All of the above mentioned will significantly increase the interest of the students in the study of topographic anatomy and operative surgery, it will create motivation and lay the foundation for clinical thinking.

Key words: teaching, operative surgery, topographic anatomy, virtual sectional course.

Конец XX века ознаменовался многими знаковыми, качественными открытиями фундаментальных наук, особенно в области получения,

формирования, хранения, обработки, скорости передачи больших объемов разнообразной информации и разработки искусственного интел-

лекта. Кроме того, современная жизнь диктует необходимость быстрого внедрения прорывных технологий в повседневную практику, заставляя человека быстро адаптироваться к динамично и многонаправленно развивающейся информационной среде. Естественно, это потребовало изменений в самом образовании, особенно в области медицины [1, 2].

Если в старой, традиционной системе образования главной фигурой образовательного процесса являлся преподаватель, который учил и вел к знаниям и умениям, то в настоящее время кардинально меняются приоритеты, когда не студента учат, а студент учится. Если коротко, то невозможно научить, можно только научиться. И здесь возникает очень интересная ситуация, когда надо учиться и преподавателю, и студенту [1, 3, 6-13].

Поэтому данной работой мы хотим открыть дискуссию о методах преподавания оперативной хирургии и топографической анатомии современным студентам-медикам.

Прежде всего, хотелось бы иметь представление о точках зрения на современных студентов, обучающихся в медицинских вузах.

У нас складывается впечатление, что отличительными особенностями молодых людей в настоящее время являются:

1. Низкий исходный уровень среднего образования в категории «общие знания», что отражается на способностях к усвоению новых знаний.

2. Отсутствие навыков систематического умственного и физического труда.

3. Отличная приспособляемость и поиск легких, сиюмоментных, часто сомнительных, путей решения, стоящих перед ними задач.

4. Быстрое получение огромных «телеграфных» объемов всевозможной информации, часто экологически «грязной», неструктурированной, при отсутствии возможности и навыков осмысления и анализа.

5. Практически постоянное, обезличенное общение в социальных сетях «высушенными» фразами (для скорости обмена информацией).

6. Отсутствие навыков длительного вербального общения по изучаемым темам.

7. Отсутствие навыков запоминания больших объемов медицинской информации по изучаемым темам.

8. Отсутствие мотивации к обучению из-за неопределенности места будущей работы.

Это не говорит о том, что современные студенты-медики неспособны учиться. Нет, они другие, адаптированные к виртуальной среде и обладающие быстрой приспособляемостью для улучшения имиджа и рейтинга при отсутствии мотивированности на получение и усвоение, особенно теоретических знаний [5, 6].

При старой системе образования современному студенту становится неинтересно, ему трудно мыслить, общаться, анализировать, запоминать и усваивать получаемые медицинские теоретические и практические знания на фоне общей «информационной интоксикации» [6].

Естественно, все сказанное выше требует углубленного изучения, и мы планируем провести его у студентов 1-4 курсов, а также и у преподавателей.

При этом, к сожалению, часто отсутствует согласованность и последовательность изучения медицинских дисциплин в современных учебных планах. Например, изучение тканей часто опережает изучение органов, клинические дисциплины – изучение топографической анатомии, в частности скелето-, голо- и синтопии внутренних органов и т.д.

В целом, особенности изучения оперативной хирургии и топографической анатомии можно охарактеризовать следующим образом:

1. Необходимость повторного изучения анатомии вследствие большого разрыва между окончанием ее курса и началом преподавания оперативной хирургии и топографической анатомии.

2. Значительное сокращение курса оперативной хирургии и топографической анатомии.

3. Большой объем механического запоминания при подготовке к каждому занятию.

4. Сдвоенный состав академических групп (на одного преподавателя приходится в среднем по 28-30 обучающихся).

5. Отсутствие биологического трупного материала для секционного изучения.

Тем не менее, уже сейчас мы хотим поделиться своим видением возможных путей изменения процесса обучения на кафедре оперативной хирургии и топографической анатомии. Его можно представить следующим образом:

1. Курс топографической анатомии и оперативной хирургии должен следовать сразу за курсом нормальной анатомии и предшествовать изучению клинических дисциплин.

2. Курс изучения топографической анатомии и оперативной хирургии должен быть полно-

ценным, а не усеченным, как в настоящее время.

3. Полностью исключить обучение по сетке и вернуться к цикловой, а лучше кейсовой, системе обучения для выработки клинического мышления.

4. Разработать и использовать на каждом занятии виртуальный секционный курс с обязательной обратной связью для контроля изученных тем.

5. Создать при кафедре фантомно-симуляционный курс для отработки практических навыков.

6. Перечень базовых практических навыков обязательно согласовывать и расширять с учетом потребностей будущих медицинских специальностей.

7. Количество студентов на одного преподавателя не должно превышать 14 учащихся.

8. Вернуться к обязательному обучению на трупах.

На наш взгляд, основной целью обучения должно являться начало формирования клинического мышления путем обучения практическим навыкам на основе общих и частных разделов топографической анатомии и оперативной хирургии, в частности скелето-, голо- и синтопии.

Этого можно достичь следующим образом:

1. Использовать методы дистанционного обучения и контроля полученных знаний для подготовки к текущим занятиям:

- лекция, размещенная на сайте кафедры, и раздел учебника (электронного) по теме текущего занятия;

- решение тестов, размещенных на сайте кафедры, по теме занятия;

- ответы на вопросы анатомических электронных карт, размещенных на сайте кафедры.

Таким образом, контроль исходного уровня знаний, повторение курса анатомии осуществляются дистанционно и освобождают время для углубленного разбора изучаемой темы на практическом занятии.

2. Проводить разбор скелето- и голотопии на основе примеров пропедевтики хирургических и внутренних болезней. Дело в том, что общий осмотр пациента в рамках обследования включает в себя пальпацию, перкуссию, аускультацию и, по сути, является определением расположения внутренних органов, сосудистых, нервных, лимфатических образований относительно скелета и проекций на поверхность тела.

3. Осуществлять разбор частных вопросов топографической анатомии и оперативной хи-

рургии с учетом синтопии внутренних органов на основе решения комплексных ситуационных клинических задач.

Объяснение и понимание развития многих клинических симптомов основаны на знании синтопии внутренних органов, сосудистых законов Н.И. Пирогова, расположения клетчаточных пространств, фасциальных влагалищ и т.д. Именно знание взаимного расположения внутренних органов, особенности кровообращения, лимфообращения, иннервации позволит быстро сориентироваться при обнаружении патологического процесса и правильно выстроить дифференциально-диагностический ряд на всех этапах постановки диагноза.

4. На каждом занятии обязательно проведение обучения практическим навыкам, начиная с завязывания узлов, изучения особенностей ограничения операционного поля, правил использования общехирургического инструментария, наложения различных швов, определения проекционных линий артериальных и нервных стволов и т.д. Желательно уже на этом этапе подключать фантомно-симуляционный курс освоения практических навыков. Это позволит ознакомиться, а, возможно, и научить выполнять плевральную пункцию и пункции различных суставов, венепункции, венесекции и т.д.

5. Постоянная тренировка суставов кисти у студентов при выполнении практических навыков будет способствовать развитию у них мелкой моторики.

Немного шире хотелось бы осветить обучение практическим навыкам по оперативной хирургии, начиная с VI семестра базового образовательного процесса до многоступенчатой подготовки освоения определенного уровня профессионального мастерства. На III курсе студенты лечебного и педиатрического факультетов отрабатывают технику обработки рук хирурга, обработки и ограничения операционного поля согласно основным разделам топографии, учат общехирургический инструментарий и современный шовный материал, осваивают технику завязывания узлов и накладывания простых швов сначала на синтетическом, а затем на биологическом материале.

Учитывая тот факт, что кафедра оперативной хирургии и топографической анатомии является единственным подразделением, где реально обучают студентов хирургическим навыкам, мы применяем многоступенчатую модель подготов-

ки и обучения специальным оперативным приемам в студенческом научном кружке. Следует отметить, что обязательным условием является одновременное изучение теоретических основ различных разделов современной хирургии и их распределение по основным направлениям. На первом этапе все студенты осваивают технику завязывания узлов в усложненных условиях на планшете, разработанном их предшественниками, затем методики наложения различных швов на кожу на кадаверном материале. Только после этого они приступают к изучению практических основ выбранных разделов хирургии: абдоминальной, грудной, сердечно-сосудистой, пластической, травматологии, урологии и т.д. Рубежным контролем является участие в теоретическом и практическом конкурсе на университетской студенческой научной конференции. Следует обратить внимание, что кураторами направлений являются студенты-кружковцы старших курсов, которые принимали участие и занимали призовые места на всероссийских и международных олимпиадах профессионального мастерства. Хирургические бригады составляются с учетом знаний и умений, а самое главное по принципу преемственности обучения начинающих студентов кружковцами, имеющими опыт выполнения усложненных оперативных техник на планшетах, кадаверном материале и выступлений на различных конкурсах. Именно путем освоения последовательных уровней сложности необходимых практических навыков осуществляется подготовка будущих врачей хирургических специальностей.

Представляется важной комплексная подготовка будущих специалистов, обязательно включающая теоретические знания по оперативной хирургии и топографической анатомии, изучаемым направлениям современной хирургии, а также стимулирование креативной рационализаторской и изобретательской деятельности студентов, в частности по совершенствованию некоторых хирургических методик и инструментов, созданию планшетов для отработки практических навыков в 2D и 3D пространстве с использованием it-технологий. Кроме того, свидетельства о рационализаторских предложениях и изобретениях, статьи, выступления на местных, всероссийских и международных конференциях и олимпиадах формируют портфолио студента за период обучения и дают определенные преференции для поступления в ординатуру и аспирантуру.

Заключение

Таким образом, именно такой подход к преподаванию топографической анатомии и оперативной хирургии, обучению практическим навыкам позволит существенно оживить изучение дисциплины, максимально приблизить ее к потребностям клинического обследования пациентов, объяснить появление и особенности развития многих симптомов и синдромов.

Все сказанное выше позволит существенно повысить интерес у студентов к изучению топографической анатомии и оперативной хирургии, заложить основы клинического мышления и сформировать мотивацию и устойчивые навыки исследовательской и будущей профессиональной деятельности.

Литература

1. Компетентностно-ориентированное обучение в медицинском вузе : учеб.-метод. пособие / А. И. Артюхина [и др.]. – Омск : Полиграф. центр КАН, 2012. – 198 с.
2. Суровцева, Т. И. Традиции и современность в развитии высшей школы в России XXI века (к 10-летию подписания Болонской декларации) / Т. И. Суровцева // Медицинское образование–2013 : сб. тез. IV Общерос. конф. с междунар. участием, Москва, 4–5 апр. 2013 г. – Москва, 2013. – С. 490–492.
3. Амирова, В. Р. Инновационные технологии в совершенствовании специалиста в медицинском вузе / В. Р. Амирова // Подготовка врачей и провизоров в условиях реформирования профессионального образования : материалы конф. – Уфа, 2013. – С. 62–64.
4. Арабидзе, Г. Г. Тенденции развития оценки и компетенций по профильным дисциплинам медицинских специальностей высшего профессионального образования / Г. Г. Арабидзе, С. И. Куденцова // Мед. образование и проф. развитие. – 2012. – № 2. – С. 57–64.
5. Бондаренко, Е. В. Формирование профессионально-субъектной позиции студента медика: роль преподавателя / Е. В. Бондаренко // Медицинское образование–2013 : сб. тез. IV Общерос. конф. с междунар. участием, Москва, 4–5 апр. 2013 г. – Москва, 2013. – С. 73–75.
6. Буш, Е. Информационная интоксикация. Педагогический диагноз для современных студентов-медиков неутешителен [Электронный ресурс] / Е. Буш // Мед. газета. – 2018. – 7 марта (№ 9). – Режим доступа: <http://www.mgzt.ru/n-9-ot-7-marta-2018-g/informatsionnaya-intoksikatsiya>. – Дата доступа: 13.09.2019.
7. Инновационная модель подготовки и непрерывного профессионального развития специалистов в сфере здравоохранения [Электронный ресурс] / А. В. Кочубей [и др.] // Современ. проблемы науки и образования. – 2015. – № 2, ч. 1. – Режим доступа: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=17158>. – Дата доступа: 04.10.2019.
8. Гуменюк, С. Е. Нестандартные формы интегрированных занятий и формирование профессиональных компетенций / С. Е. Гуменюк, А. Ю. Сидельников // Медицинское

образование–2013 : сб. тез. IV Общерос. конф. с междунар. участием, Москва, 4–5 апр. 2013 г. – Москва, 2013. – С. 135–136.

9. Куршев, В. В. Новое образовательное медицинское пространство – важнейший фактор подготовки компетентного специалиста / В. В. Куршев // Медицинское образование–2013 : сб. тез. IV Общерос. конф. с междунар. участием, Москва, 4–5 апр. 2013 г. – Москва, 2013. – С. 280–282.
10. Мельникова, И. Ю. Обучение врачей: новые педагогические парадигмы / И. Ю. Мельникова, М. Г. Романцов // Подготовка врачей и провизоров в условиях реформирования профессионального образования : материалы конф. – Уфа, 2013. – С. 11–13.
11. Мельникова, И. Ю. Особенности медицинского образования и роль преподавателя вуза в образовательном процессе на современном этапе / И. Ю. Мельникова, М. Г. Романцов // Междунар. журн. эксперим. образования. – 2013. – № 11-2. – С. 47–52.
12. Романцов, М. Г. Модернизация медицинского образования посредством включения элементов конструктивной педагогики в образовательный процесс / М. Г. Романцов, О. В. Шамшева, И. Ю. Мельникова // Дет. инфекции. – 2015. – Т. 14, № 1. – С. 55–59.
13. Использование методов конструктивной педагогики в реализации Болонской декларации при обучении будущих врачей / М. Г. Романцов [и др.] // Здравоохранение Российской Федерации. – 2011. – № 1. – С. 32–35.

Поступила 25.06.2019 г.

Принята в печать 27.09.2019 г.

References

1. Artyukhina AI, Getman NA, Golubchikova MG, Lopanova EV, Rabochikh TB, Rybakova NI. Competency-based training at a medical university: ucheb-metod posobie. Omsk, RF: Poligraf tsentr KAN; 2012. 198 p. (In Russ.)
2. Surovtseva TI. Traditions and modernity in the development of higher education in Russia of the 21st century (on the 10th anniversary of the signing of the Bologna Declaration). V: Meditsinskoe obrazovanie–2013: sb tez IV Obshcheros konf s mezhhdunar uchastiem, Moskva, 4–5 apr 2013 g. Moscow, RF; 2013. P. 490-2. (In Russ.)
3. Amirova VR. Innovative technologies in the improvement of a specialist in a medical university. V: Podgotovka vrachej i provizorov v uslovijah reformirovaniya professional'nogo obrazovaniya: materialy konf. Ufa, RF; 2013. P. 62-4. (In Russ.)
4. Arabidze GG, Kudentsova SI. Trends in the development of assessment and competencies in the core disciplines of medical specialties of higher professional education. Med Obrazovanie Prof Razvitie. 2012;(2):57-64. (In Russ.)
5. Bondarenko EV. The formation of the professionally-subjective position of a medical student: the role of a teacher. V: Medicinskoe obrazovanie–2013: sb tez IV Obshcheros konf s mezhhdunar uchastiem, Moscow, 4–5 apr 2013 g. Moskva, RF; 2013. P. 73-5. (In Russ.)
6. Bush E. The formation of the professionally-subjective position of a medical student: the role of a teacher [Elektronnyj resurs]. Med Gazeta. 2018;7 marta(9). Rezhim dostupa: <http://www.mgzt.ru/n-9-ot-7-marta-2018-g/informatsionnaya-intoksikatsiya>. Data dostupa: 13.09.2019. (In Russ.)
7. Kochubey AV, Konanykhina AK, Zimina EV, Gatsura OA, Navarkin MV. Innovative model of training and continuous professional development of healthcare professionals [Elektronnyj resurs]. Sovremen Problemy Nauki Obrazovaniia. 2015;(2, ch 1). Rezhim dostupa: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=17158>. Data dostupa: 04.10.2019. (In Russ.)
8. Gumenyuk SE, Sidel'nikov AYU. Non-standard forms of integrated training and the formation of professional competencies. V: Medicinskoe obrazovanie–2013: sb tez IV Obshcheros konf s mezhhdunar uchastiem, Moscow, 4–5 apr 2013 g. Moskva, RF; 2013. P. 135-6. (In Russ.)
9. Kurshev VV. A new educational medical space is the most important factor in the preparation of a competent specialist. V: Medicinskoe obrazovanie–2013: sb tez IV Obshcheros konf s mezhhdunar uchastiem, Moskva, 4–5 apr 2013 g. Moscow, RF; 2013. P. 280-2. (In Russ.)
10. Mel'nikova IYu, Romantsov MG. Doctors training: new pedagogical paradigms. V: Podgotovka vrachej i provizorov v uslovijah reformirovaniya professional'nogo obrazovaniya: materialy konf. Ufa, RF; 2013. P. 11-3. (In Russ.)
11. Mel'nikova IYu, Romantsov MG. Features of medical education and the role of a university teacher in the educational process at the present stage. Mezhdunar Zhurn Jeksperim Obrazovaniya. 2013;(11-2):47-52. (In Russ.)
12. Romantsov MG, Shamsheva OV, Mel'nikova IYu. Modernization of medical education by including elements of constructive pedagogy in the educational process. Det Infektsii. 2015;14(1):55-9. (In Russ.)
13. Romantsov MG, Grebenyuk TB, Sologub TV, Shul'dyakov AA, Danilenkova GG. Using the methods of constructive pedagogy in the implementation of the Bologna Declaration in the training of future doctors. Zdravoohranenie Rossijskoj Federacii. 2011;(1):32-5. (In Russ.)

Submitted 25.06.2019

Accepted 27.09.2019

Сведения об авторах:

Асмоловский А.В. – д.м.н., профессор кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии, Смоленский государственный медицинский университет,

Шаматкова С.В. – к.м.н., доцент, зав. кафедрой оперативной хирургии и топографической анатомии, Смоленский государственный медицинский университет.

Information about authors:

Asmolovskiy A.V. – Doctor of Medical Sciences, professor of the Chair of Operative Surgery & Topographic Anatomy, Smolensk State Medical University;

Shamatkova S.V. – Candidate of Medical Sciences, associate professor, head of the Chair of Operative Surgery & Topographic Anatomy, Smolensk State Medical University.

Адрес для корреспонденции: Российская Федерация, 214019, г. Смоленск, ул. Крупской, д. 28, Смоленский государственный медицинский университет, кафедра оперативной хирургии и топографической анатомии. E-mail: asmolovsky@gmail.com – Асмоловский Александр Валентинович.

Correspondence address: *Russian Federation, 214019, Smolensk, 28 Krupskaya str., Smolensk State Medical University, Chair of Operative Surgery & Topographic Anatomy. E-mail: asmolovsky@gmail.com – Alexander V. Asmolovskiy.*

ИССЛЕДОВАНИЕ СИТУАТИВНОЙ И ЛИЧНОСТНОЙ ТРЕВОЖНОСТИ СТУДЕНТОВ

ГОРОДЕЦКАЯ И.В.¹, КОНЕВАЛОВА Н.Ю.¹, ЗАХАРЕВИЧ В.Г.²

¹Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

²Витебский областной клинический родильный дом, г. Витебск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2019. – Том 18, №5. – С. 120-127.

THE STUDY OF THE SITUATIONAL AND PERSONAL ANXIETY OF STUDENTS

GORODETSKAYA I.V.¹, KONEVALOVA N.Y.¹, ZAKHAREVICH V.G.²

¹Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

²Vitebsk Region Clinical Maternity Home, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2019;18(5):120-127.

Резюме.

В результате анкетирования студентов лечебного факультета выявлены факторы личностного характера и связанные с обучением, способные вызвать развитие тревожного состояния. Методом Спилберга-Ханина определен уровень ситуативной и личностной тревожности. Опрошено 90 человек (по 30 студентов 1, 4, 6 курсов).

Установлено, что на появление тревожного состояния преимущественно влияют такие факторы личностного характера, как проблемы в семье, с друзьями, финансовое положение. Основные из факторов, связанных с обучением, – большой объем учебного материала, недостаточный уровень практической подготовки, проблемы в общении с преподавателями, одногруппниками.

Более, чем половине студентов 1 и 6 курсов свойствен умеренный уровень ситуативной и высокий уровень личностной тревожности, 4 курса – высокий уровень ситуативной и умеренный уровень личностной тревожности.

На это необходимо обратить внимание преподавателей, как и на такие факторы, отмеченные студентами, как недостаточный уровень практической подготовки и проблемы в общении с преподавателями.

Выявление условий, способствующих появлению тревожных состояний, учет степени ситуативной и личностной тревожности студентов будут способствовать совершенствованию организации образовательного процесса.

Ключевые слова: студенты, ситуативная и личностная тревожность.

Abstract.

As a result of the conducted survey of the students of the medical faculty, personal factors as well as those associated with their studies that can cause the development of anxiety have been identified. The method of Spielberger - Khanin was used to determine the level of the situational and personal anxiety. 90 people (30 first-year students, 30 fourth-year students and 30 sixth-year students) have been interviewed.

It has been established that the development of anxiety is influenced by such personal factors as problems in the family / with friends, financial situation. The main factors related to training are a large amount of the material to be studied, an insufficient level of practical training, problems in communicating with the lecturers, groupmates.

More than half of the students of the 1st and the 6th years are characterized by a moderate level of situational and high level of personal anxiety, the 4th - year students have a high level of situational and a moderate level of personal anxiety.

It is necessary to attract the lecturers' attention to the factors mentioned by the students, and also to such factors as an insufficient level of their practical training and problems in communicating with the lecturers.

Identifying the factors contributing to the development of anxiety, taking into account the degree of the situational and personal anxiety of the students will contribute to improving the organization of the educational process.

Key words: students, situational and personal anxiety.

Тревожность – это психологическое состояние человека, проявлением которого является тревога по любым поводам [1]. Различают ситуативную (связана с конкретной внешней ситуацией) и личностную (свойство личности) тревожность [2].

Тревожные состояния влекут за собой напряженность, чувство страха, опасение, осторожность, преувеличение значимости воспринимаемой информации, вследствие чего приводят к снижению академических достижений студентов, т.е. негативно влияют на конечный результат учебной деятельности [3]. В ходе предварительного опроса студенты отметили следующие факторы, которые могут вызвать появление тревожности: 1) личностного характера: а) проблемы в семье, с друзьями; б) финансовое положение; в) политическая ситуация в мире; 2) связанные с обучением: а) большой объем учебного материала; б) недостаточный уровень практической подготовки; в) проблемы в общении с преподавателями; г) проблемы в группе; д) проблемы в общении с пациентами; е) проблемы в общении с медицинским персоналом.

В связи с этим в 2018-2019 учебном году одной из тем исследований студенческого сектора лаборатории инновационной педагогики было выбрано изучение факторов и степени тревожности студентов.

Материал и методы

Было опрошено 90 студентов лечебного факультета (по 30 студентов 1, 4, 6 курсов).

Респондентам предлагалось ответить на вопросы:

1. Какие факторы могут вызвать у Вас развитие тревожного состояния?

2. Как Вы боретесь с тревожными состояниями?

а) фильмы;

б) спорт;

в) музыка;

г) книги;

д) прогулки;

е) общение;

ж) интернет;

з) другое (напишите свой вариант).

Для определения уровня ситуативной и личностной тревожности было проведено тестирование по методике Спилбергера–Ханина [4].

Студентам было предложено выбрать состояние, которое характерно для них в данный момент (табл. 1, 2).

Результаты интерпретировали в таблице 3.

По каждой из таблиц общий итоговый показатель мог колебаться от 20 до 80 баллов. Чем

Таблица 1 – Шкала ситуативной тревожности

№	Суждение	Никогда	Почти никогда	Часто	Почти всегда
Шкала ситуативной тревожности					
1	Я спокоен	1	2	3	4
2	Мне ничто не угрожает	1	2	3	4
3	Я нахожусь в напряжении	1	2	3	4
4	Я внутренне скован	1	2	3	4
5	Я чувствую себя свободно	1	2	3	4
6	Я расстроен	1	2	3	4
7	Меня волнуют возможные неудачи	1	2	3	4
8	Я ощущаю душевный покой	1	2	3	4
9	Я встревожен	1	2	3	4
10	Я испытываю чувство внутреннего удовлетворения	1	2	3	4
11	Я уверен в себе	1	2	3	4
12	Я нервничаю	1	2	3	4
13	Я не нахожу себе места	1	2	3	4
14	Я взвинчен	1	2	3	4
15	Я не чувствую скованности, напряжения	1	2	3	4
16	Я доволен	1	2	3	4
17	Я озабочен	1	2	3	4
18	Я слишком возбужден и мне не по себе	1	2	3	4
19	Мне радостно	1	2	3	4
20	Мне приятно	1	2	3	4

Таблица 2 – Шкала личностной тревожности

№	Суждение	Никогда	Почти никогда	Часто	Почти всегда
21	У меня бывает приподнятое настроение	1	2	3	4
22	Я бываю раздражительным	1	2	3	4
23	Я легко расстраиваюсь	1	2	3	4
24	Я хотел бы быть таким же удачливым, как и другие	1	2	3	4
25	Я сильно переживаю неприятности и долго не могу о них забыть	1	2	3	4
26	Я чувствую прилив сил и желание работать	1	2	3	4
27	Я спокоен, хладнокровен и собран	1	2	3	4
28	Меня тревожат возможные трудности	1	2	3	4
29	Я слишком переживаю из-за пустяков	1	2	3	4
30	Я бываю вполне счастлив	1	2	3	4
31	Я все принимаю близко к сердцу	1	2	3	4
32	Мне не хватает уверенности в себе	1	2	3	4
33	Я чувствую себя незащищенным	1	2	3	4
34	Я стараюсь избегать критических ситуаций и трудностей	1	2	3	4
35	У меня бывает хандра	1	2	3	4
36	Я бываю доволен	1	2	3	4
37	Всякие пустяки отвлекают и волнуют меня	1	2	3	4
38	Бывает, что я чувствую себя неудачником	1	2	3	4
39	Я уравновешенный человек	1	2	3	4
40	Меня охватывает беспокойство, когда я думаю о своих делах и заботах	1	2	3	4

Таблица 3 – Интерпретация результатов

Ситуативная тревожность					Личностная тревожность				
№№	1	2	3	4	№№	1	2	3	4
1	4	3	2	1	21	4	3	2	1
2	4	3	2	1	22	1	2	3	4
3	1	2	3	4	23	1	2	3	4
4	1	2	3	4	24	1	2	3	4
5	4	3	2	1	25	1	2	3	4
6	1	2	3	4	26	4	3	2	1
7	1	2	3	4	27	4	3	2	1
8	4	3	2	1	28	1	2	3	4
9	1	2	3	4	29	1	2	3	4
10	4	3	2	1	30	4	3	2	1
11	4	3	2	1	31	1	2	3	4
12	1	2	3	4	32	1	2	3	4
13	1	2	3	4	33	1	2	3	4
14	1	2	3	4	34	1	2	3	4
15	4	3	2	1	35	1	2	3	4
16	4	3	2	1	36	4	3	2	1
17	1	2	3	4	37	1	2	3	4
18	1	2	3	4	38	1	2	3	4
19	4	3	2	1	39	4	3	2	1
20	4	3	2	1	40	1	2	3	4

Примечание: напротив номеров вопросов указаны баллы, начисляемые за тот или иной вариант ответа.

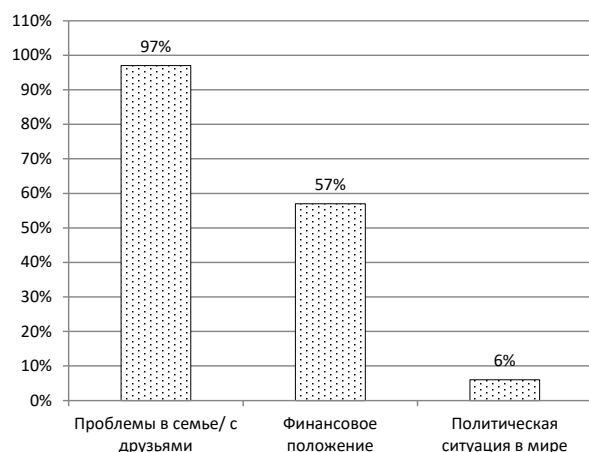
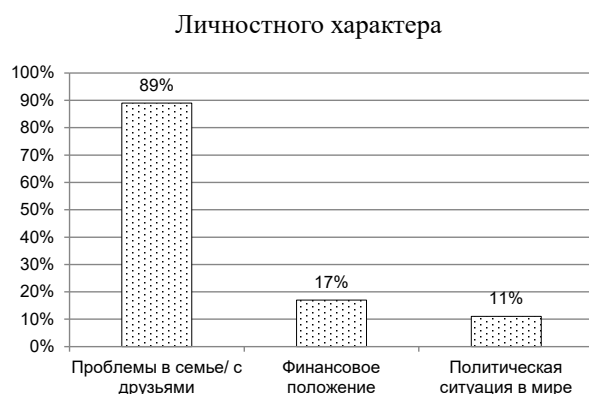
он больше, тем выше уровень тревожности (ситуативной или личностной).

При сумме баллов до 30 – делали заключение о низком уровне тревожности, от 31 до 44 баллов – об умеренном, свыше 45 – о высоком.

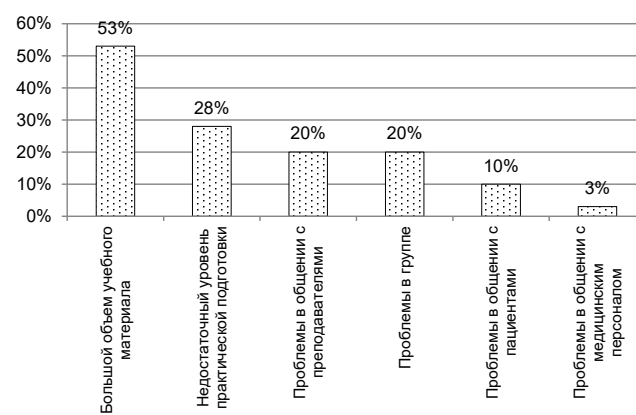
Результаты и обсуждение

Обработка результатов анкетирования выявила следующее.

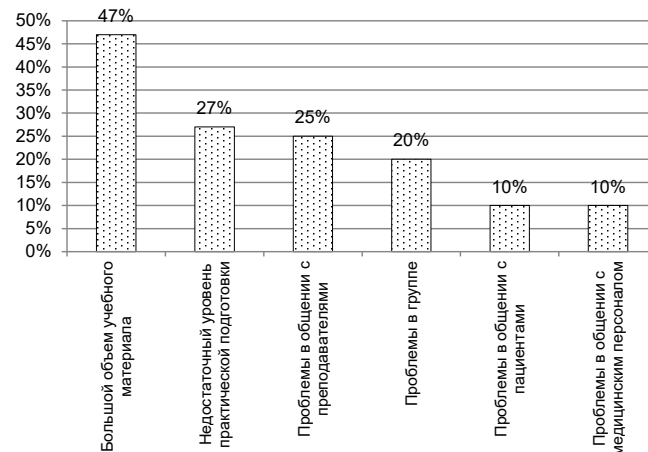
Средний возраст опрошенных на 1 курсе составил 17,2 года; на 4 – 20,2; на 6 – 22,4.



А



Б



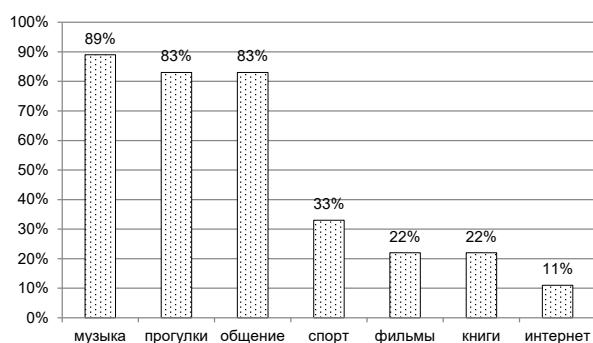
В

Рисунок 1 – Распределение ответов на вопрос: «Какие факторы могут вызвать у Вас развитие тревожного состояния?»: А – 1 курс, Б – 4 курс, В – 6 курс.

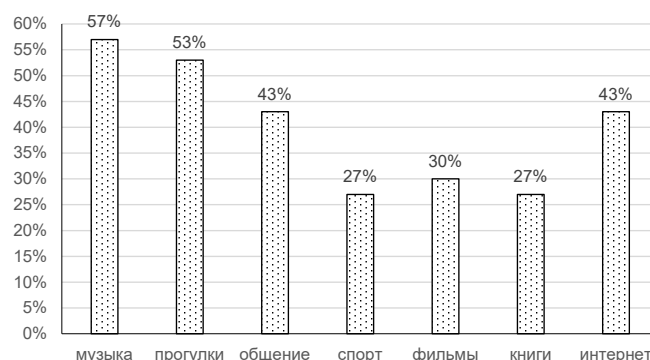
Распределение ответов на вопрос: «Какие факторы могут вызвать у Вас развитие тревожного состояния?» (рис. 1) показало преобладание на всех курсах среди факторов личностного характера такого варианта, как «Проблемы в семье, с друзьями» (1 курс – 89%, 4 курс – 87%, 6 курс – 97%). Вторым по популярности вариантом ответа был «Финансовое положение», особенно среди студентов 6 курса (57%). Число студентов 1 курса, выбравших такой вариант ответа, было существенно ниже – 17%, 4 курса – 27%. Наименьшим по популярности вариантом ответа оказался «Политическая ситуация в мире»: на 1 курсе – 11%, на 4 курсе – 7%, на 6 курсе – 6%. Следовательно, наиболее значимым фактором личностного характера, способным вызвать тревожность, являются проблемы с близкими, наименее – политические события.

Среди факторов, связанных с обучением, способных вызвать тревожное состояние, большинство студентов всех курсов выбрало «Большой объем учебного материала»: на 1 курсе – 78%, на 4 курсе – 53%, на 6 – 47%. Вторым по популярности ответом среди респондентов 4 и 6 курсов оказался «Недостаточный уровень практической

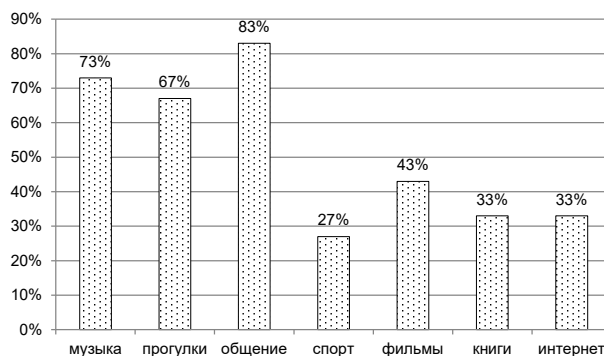
подготовки» (28 и 27% соответственно), на что следует обратить внимание преподавателей клинических кафедр. Количество студентов 1 курса, выбравших этот вариант ответа, составило 39%, что по частоте оказалось на третьем месте. На второе же место первокурсники поставили «Проблемы в общении с преподавателями» (50%), на что также необходимо обратить внимание. Студенты 4 и 6 курсов выбрали такой вариант ответа в значительно меньшем количестве (20 и 23% соответственно), что указывает на их успешную адаптацию к среде обучения в университете. Такая же ситуация и в отношении выбора варианта ответа «Проблемы в группе»: среди студентов 1 курса его отметили 33%, 4 и 6 курсов – по 20%. У наименьшего количества опрошенных развитию тревожных состояний способствуют проблемы в общении с пациентами (1 курс – 6%, 4 и 6 курсы – по 10%) и медицинским персоналом (1 курс – 6%, 4 курс – 3%, 6 курс – 10%). Возможно, это связано с тем, что студенты начинают занятия в клинике с 1 курса. Также свой вклад вносит изучение новой дисциплины «Биомедицинская этика и коммуникации в здравоохранении».



А



Б



В

Рисунок 2 – Распределение ответов на вопрос: «Как Вы боретесь с тревожными состояниями?»:
А – 1 курс, Б – 4 курс, В – 6 курс.

Анализ ответов на вопрос: «Как Вы боретесь с тревожными состояниями?» (рис. 2) показал, что наиболее популярным способом является прослушивание музыкальных композиций: 1 курс – 89% респондентов, 4 курс – 57%, 6 курс – 73%.

Больше половины студентов всех курсов отдают предпочтение прогулкам (1 курс – 83%, 4 курс – 53%, 6 курс – 67%) и общению (1 курс – 83%, 4 курс – 43%, 6 курс – 67%). Наименее популярным оказалось чтение книг. Такой вариант отметили 22% первокурсников, 27% студентов 4 курса, 33 % студентов 6 курса.

Радует тот факт, что студенты не забывают

о занятиях спортом – около 30% всех опрошенных выбирают физические нагрузки.

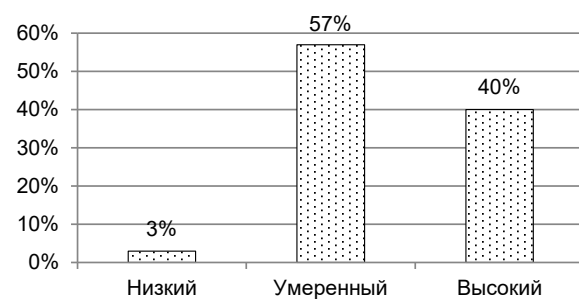
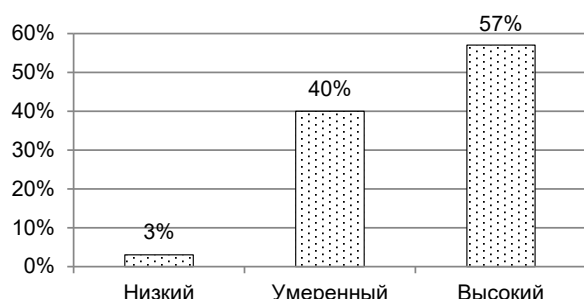
В качестве своих вариантов борьбы с тревожными состояниями были предложены следующие:

- еда (10 ответов);
- сон (7 ответов);
- медитация (2 ответа);
- смех (1 ответ);
- путешествия (1 ответ);
- рисование (1 ответ).

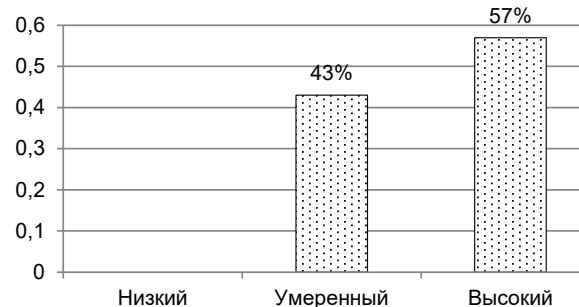
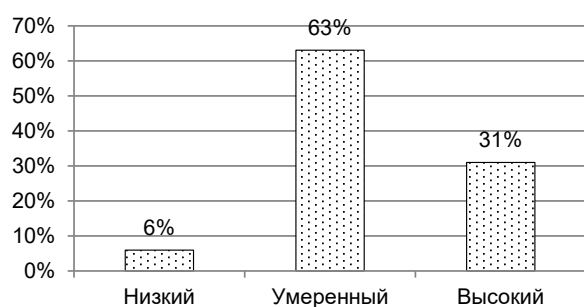
Далее проанализированы результаты анкетирования по методике Спилбергера–Ханина (рис. 3).



А



Б



В

Рисунок 3 – Результаты анкетирования студентов по методике Спилбергера – Ханина:
А – 1 курс, Б – 4 курс, В – 6 курс.

Ситуативная тревожность. Для большинства студентов 1 и 6 курсов характерен умеренный уровень (35-40 баллов) ситуативной тревожности: на 1 курсе он отмечен у 60% студентов, на 6 курсе – у 63%, тогда как для респондентов 4 курса – высокий (45-50 баллов) (57%). Возможно, это связано с тем, что именно на этом курсе студенты начинают изучать клинические дисциплины, дежурить в клинике. Ни у одного из опрошенных студентов 1 курса не был выявлен низкий уровень ситуативной тревожности. Количество студентов на 4 и 6 курсах крайне невелико и составляет 3 и 6% (25-30 баллов). Соответственно, для 40% опрошенных 1 курса характерен высокий уровень ситуативной тревожности, как и 31% выпускников. У 40% респондентов 4 курса зафиксирован умеренный уровень ситуативной тревожности.

Личностная тревожность. У большинства проанкетированных студентов 1 и 6 курсов (53 и 57%) выявлен высокий уровень (45-50 баллов) личностной тревожности, тогда как у респондентов 4 курса (57%) – умеренный (35-40 баллов). По нашему мнению, для студентов 1 курса это связано со сменой места жительства, условий учебы, новым коллективом, большим объемом изучаемого материала, тогда как для студентов-выпускников – с предстоящими распределением и работой в практическом здравоохранении. Низкий уровень (25-30 баллов) личностной тревожности был обнаружен только у 3% студентов 4 курса. Умеренный уровень личностной тревожности был характерен для 47% респондентов 1 курса и 43% 6 курса, высокий – для 40% студентов 4 курса.

Следовательно, более чем у половины студентов 1 и 6 курсов выявлен умеренный уровень ситуативной и высокий уровень личностной тревожности, 4 курса – высокий уровень ситуативной и умеренный уровень личностной тревожности.

References

1. Gorshkov EA, Korotkina LD. Study of emotional anxiety of students at different stages of education at the pedagogical university. *Molodoi Uchenyi*. 2015;(23): 46-51. (In Russ.)
2. Khanin YuL. A Brief Guide to applying the scale of Reactive Personal Anxiety by C. D. Spielberger. Leningrad,

Заключение

На основании анализа результатов анкетирования студентов 1, 4, 6 курсов лечебного факультета установлено, что развитие тревожного состояния определяется следующими факторами: личностного характера (проблемы в семье, с друзьями, финансовое положение) и связанными с обучением (большой объем учебного материала, недостаточный уровень практической подготовки, проблемы в общении с преподавателями, в группе).

Для борьбы с развившимися тревожными состояниями студенты выбирают прослушивание музыкальных композиций, прогулки на свежем воздухе, общение, просмотры кинофильмов, занятие спортом, использование всемирной паутины, чтение книг.

Более чем у половины исследованных нами студентов зафиксирован умеренный или высокий уровень как ситуативной, так и личностной тревожности, на что следует обратить внимание преподавателей.

Знание факторов, способствующих появлению тревожных состояний у студентов, степени их ситуативной и личностной тревожности необходимо для совершенствования образовательного процесса с целью повышения его качества.

Литература

1. Горшков, Е. А. Исследование эмоциональной тревожности студентов на разных этапах обучения в педагогическом вузе / Е. А. Горшков, Л. Д. Короткина // Молодой ученый. – 2015. – № 23. – С. 46–51.
2. Ханин, Ю. Л. Краткое руководство к применению шкалы реактивной личностной тревожности Ч. Д. Спилбергера / Ю. Л. Ханин. – Ленинград : ЛНИИФК, 1976. – 40 с.
3. Айзенк, Х. Психологические теории тревожности / Х. Айзенк // Тревога и тревожность : хрестоматия / сост. В. М. Астапов. – СПб. : Пер Сэ, 2008. – С. 217–239.
4. Практикум по психологии состояний : учеб. пособие / под ред. проф. О. А. Прохорова. – СПб. : Речь, 2004. – 480 с.

Поступила 19.07.2019 г.

Принята в печать 27.09.2019 г.

RF: LNIIFK; 1976. 40 p. (In Russ.)

3. Ayzenk Kh. Psychological theories of anxiety. V: Astapov VM, sost. *Trevoga i trevozhnost': khrestomatia*. Saint Petersburg, RF: Per Se; 2008. P. 217-39. (In Russ.)
4. Prokhorov OA, red. *Workshop on state psychology: ucheb posobie*. Saint Petersburg, RF: Rech'; 2004. 480 p. (In Russ.)

Submitted 19.07.2019

Accepted 27.09.2019

Сведения об авторах:

Городецкая И.В. – д.м.н., профессор, декан факультета повышения квалификации и переподготовки по педагогике и психологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;
Коневалова Н.Ю. – д.б.н., профессор, проректор по учебной работе, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;
Захаревич В.Г. – интерн акушер-гинеколог, Витебский областной клинический родильный дом.

Information about authors:

Gorodetskaya I.V. – Doctor of Medical Sciences, professor, dean of the Faculty for Advanced Training & Retraining in Pedagogics & Psychology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;
Konevalova N.Y. – Doctor of Biological Sciences, professor, pro-rector for academic affairs, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;
Zakharevich V.G. – obstetrician-gynecologist intern, Vitebsk Regional Clinical Maternity Home.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, факультет повышения квалификации и переподготовки по педагогике и психологии. E-mail: gorodecka-iv@mail.ru – Городецкая Ирина Владимировна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Faculty for Advanced Training & Retraining in Pedagogics & Psychology. E-mail: gorodecka-iv@mail.ru – Irina V. Gorodetskaya.

К ЮБИЛЕЮ СВЯТОСЛАВА ПАВЛОВИЧА КУЛИКА 60 лет со дня рождения



Святослав Павлович Кулик родился 27 сентября 1959 года в д. Нижний Теребежов Столинского района Брестской области. После окончания восьмилетки получил специальность учителя начальных классов в Пинском педагогическом училище и работал по распределению в СШ №41 г. Минска.

В 1978 году поступил на отделение философии Белорусского государственного университета, где уже со 2 курса заинтересовался научными исследованиями по философии сознания.

После окончания с отличием Белгосуниверситета был рекомендован в аспирантуру на кафедру профессора В.С. Степина – философа с мировым именем, в дальнейшем директора института философии АН СССР, академика РАН.

В 1987 году защитил кандидатскую диссертацию по философско-методологическим проблемам компьютеризации мышления на соискание ученой степени кандидата философских наук. С 1986 по 1989 гг. работал на кафедре философии Гомельского политехнического института.

Вот уже 30 лет, с сентября 1989 года, вся научно-педагогическая деятельность Святослава Павловича связана с Витебским государственным медицинским университетом. Он прошел путь от старшего преподавателя кафедры философии до доцента и заведующего кафедрой социально-гуманитарных наук. Во многом благодаря его организаторским способностям и коммуникативным качествам, таланту руководителя кафедра достигла огромных успехов в профилизации социально-гуманитарного образования в медицинском вузе и в информационно-методическом обеспечении идеологической и воспитательной работы со студентами, дважды становилась лучшей кафедрой года ВГМУ.

Область научных интересов С.П. Кулика связана с философскими исследованиями сознания, культуры и образования. Он является автором около 200 печатных работ, в том числе монографий, по проблемам компьютеризации мышления, социальной биоэтики, философии образования.

Под руководством Святослава Павловича кафедрой издан целый ряд учебных и учебно-методических пособий для обеспечения социально-гуманитарного образования в медицинском вузе. Он по праву является одним из пионеров разработки и внедрения биомедицинской и биофармацевтической этики в систему медицинского образования Республики Беларусь. Выступил инициатором и организатором Республиканской научно-практической конференции с международным участием «Биоэтика и современные проблемы медицинской этики и деонтологии» (2016), автор 4 учебных пособий по философии и биомедицинской этике, изданных под грифом Министерства образования и Министерства здравоохранения.

Своими научно-педагогическими знаниями С.П. Кулик щедро делится как с преподавательским коллективом кафедры, так и со слушателями факультетов повышения квалификации университета. Результаты успешного наставничества Святослава Павловича по праву можно считать подготовку и

защиту молодыми преподавателями кафедры кандидатских диссертаций. Он является руководителем студенческих научно-исследовательских работ, которые неоднократно побеждали на Республиканских конкурсах.

Святослав Павлович принимает активное участие в общественной жизни университета, города и области: член Совета университета, Совета лечебного факультета, научно-технического и центрального учебно-методического Советов, заместитель председателя Совета по воспитательной работе, руководитель идеологического центра ВГМУ, член редакционного совета журнала «Вестник Витебского государственного медицинского университета», член правления городского общества «Знание», лекторской группы Октябрьского райисполкома г. Витебска.

За многолетнюю плодотворную научно-педагогическую деятельность, успехи в подготовке высококвалифицированных специалистов, за личный вклад в воспитательную работу и развитие способностей талантливой молодежи награждался знаком «Отличник образования», памятной медалью «За заслуги в развитии ВГМУ», Почетными грамотами и дипломами Министерства образования и Министерства здравоохранения, Витебского областного исполнительного комитета, а также отмечен премией Специального фонда Президента Республики Беларусь по социальной поддержке одаренных учащихся и студентов.

Святослав Павлович воплощает в себе сочетание профессионализма и высоких моральных качеств, принципиальности и гуманности, исполнительности и добросовестности, подавая пример работоспособности и целеустремленности молодому поколению преподавателей и студентов.

Администрация университета, коллектив кафедры социально-гуманитарных наук, сотрудники и студенты сердечно поздравляют Кулика Святослава Павловича с юбилеем и желают ему крепкого здоровья, неиссякаемой творческой энергии, благополучия и счастья.

Коллектив кафедры социально-гуманитарных наук ВГМУ

**ЛЮБИТЬ ТО, ЧЕМ ЗАНИМАЕШЬСЯ. УВАЖАТЬ ТЕХ, КТО РЯДОМ:
к юбилею Людмилы Евгеньевны Тригорловой.
60 лет со дня рождения**



Что необходимо человеку для счастья?

Одним нужна материальная обеспеченность, а другие считают наибольшим счастьем чувствовать себя необходимым людям, приносить радость другим. Именно таким человеком, который с воодушевлением отдает свою любовь окружающим, и является Тригорлова Людмила Евгеньевна, заведующий кафедрой химии факультета профориентации и довузовской подготовки.

Слова известной писательницы Джулианы Вильсон «ничто так не приближает к своему месту в жизни, как дело, которому готов посвятить всю свою жизнь» являются ее главным принципом.

Профессиональный путь Людмилы Евгеньевны начался после окончания биолого-химического факультета Витебского государственного педагогического института имени С. М. Кирова. С 1981 по 2001 год работала учителем химии и биологии Октябрьской средней школы Витебского района. 2001-2005 гг. – старший преподаватель на кафедре общей, физической и коллоидной химии Витебского государственного ордена Дружбы народов медицинского университета.

С 1 сентября 2005 года назначена заведующим вновь созданной кафедры химии факультета профориентации и довузовской подготовки, а затем избрана по конкурсу.

Людмила Евгеньевна – инициативный руководитель, которого характеризуют высокий профессионализм, стремление к самосовершенствованию, креативность. По ее мнению, одной из главных задач в работе руководителя является создание условий для саморазвития преподавателей и совершенствование их профессионального мастерства, а главной задачей преподавателя – обеспечение преемственности в формировании тех компетенций, которые необходимы учащимся для дальнейшего обучения, самоопределения в профессиональной области. Людмила Евгеньевна личным примером вдохновляет преподавателей на обогащение собственной педагогической практики, повышение профессиональной компетентности, участие в инновационных процессах.

На протяжении многих лет Людмила Евгеньевна обеспечивает организационно-методическое сопровождение исследовательской деятельности на кафедре, координирует и оказывает методическую помощь на всех ее этапах. В рамках научно-исследовательской работы по теме «Установить влияние использования инновационных педагогических технологий на качество образовательного процесса в медицинском вузе» было организовано исследование по заданию «Создание непрерывной интегрированной системы трехступенчатой подготовки слушателей ФПДП к централизованному тестированию по химии и обучению в вузе». Результатом научно-исследовательской работы стало внедрение в практику работы кафедры непрерывной интегрированной многоуровневой системы довузовской подготов-

ки абитуриентов по химии, эффективность которой подтверждают хорошие результаты сдачи вступительных испытаний слушателями.

По инициативе Людмилы Евгеньевны в 2015-2016 учебном году на кафедре организован научный кружок «Шаг в науку» для слушателей ФПДП и учащихся школ. Принимая участие в учебных исследованиях, старшеклассники получают возможность посмотреть на различные проблемы с позиции ученых, ощутить весь спектр требований к научному исследованию еще до поступления в высшее учебное заведение.



Выступление на научно-практической конференции
г. Санкт-Петербург

Людмила Евгеньевна постоянно совершенствует свое профессиональное мастерство через активное участие в многочисленных республиканских и международных семинарах, конференциях, во время которых изучает систему образования разных стран, делится собственным опытом, много усилий прилагает для развития сотрудничества с университетами России, Латвии, Литвы.

Только за последние годы она принимала участие в работе международных научно-практических конференций: «Вопросы формирования здорового образа жизни» (г. Москва), «Инновации в преподавании» (г. Казань), «Конкурентоспособность высшего образования в условиях информационного общества» (г. Чернигов), 66-ой Всероссийской научно-практической конференции по актуальным проблемам химического и экологического образования, проходившей в ФГБОУ ВО «Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена», XXI национальной научно-практической конферен-

ция «Естественнонаучное образование в школе» (Литовская Республика). Участвовала в международной образовательной программе профессиональной мобильности «Современные модели профориентационной деятельности со школьниками на примере стран Балтии».

Людмила Евгеньевна активно пропагандирует опыт педагогической деятельности в печати. Ею написано и опубликовано более 70 статей, монография по организационно-методическим аспектам преподавания химии на этапе довузовской подготовки в медицинском университете.

В рамках повышения квалификации учителей химии в Витебском областном институте развития образования Людмила Евгеньевна проводит учебные семинары, мастер-классы по теме «Содержательно-методические аспекты подготовки абитуриентов к централизованному тестированию по химии».

Важной чертой Людмилы Евгеньевны является умение налаживать контакты с общественностью, руководителями школ, привлекать сотрудников этих учреждений к проведению совместных мероприятий.

Одним из перспективных направлений деятельности кафедры химии ФПДП является организация сотрудничества со средними учебными заведениями г. Витебска и Витебской области. Такое сотрудничество продиктовано социальным заказом – необходимостью более ранней профессиональной ориентации учащихся и помощи будущим абитуриентам в преодолении конкурсного барьера при поступлении в образовательные учреждения медицинского профиля. Примером такой формы сотрудничества университета и школ является организация работы с учащимися профильных классов ГУО «Гимназия № 8 г. Витебска», ГУО «Средняя школа № 46 г. Витебска», ГУО «Средняя школа №16 г. Полоцка», ГУО «Бешенковичская гимназия-интернат», ГУО «Гимназия №1 г. Дубровно».

В рамках реализации программы сотрудничества «школа – университет» ежегодно на кафедре химии ФПДП проводится конференция учебно-исследовательской работы «Шаг в науку». Главными участниками конференции являются учащиеся школ города, слушатели и студенты младших курсов.

«Чтобы быть хорошим педагогом, необходимо любить то, что преподаешь, и тех, кому препода-

есть». Эти слова известного русского мыслителя и историка В. Ключевского можно отнести к Людмиле Евгеньевне.

Авторитет педагога, как известно, складывается из авторитета его знаний, поэтому Людмила Евгеньевна постоянно стремится к саморазвитию, самопознанию, самореализации, изучает новейшие достижения педагогики и методики преподавания химии. Она является автором 34 учебно-методических пособий, используемых в образовательном процессе изучения предмета «Химия» слушателями ФПДП, преподавателями кафедры, учителями и учащимися школ города.



На учебных занятиях с учащимися ГУО «Бешенковичская гимназия-интернат»

Глубина знаний в области химии позволяет ей использовать современные методы обучения и повышения эффективности учебных занятий, а значит, и качества образования. Применяя современные образовательные технологии для творческой организации учебных занятий, создает условия, которые позволяют каждому слушателю реализовать его личный потенциал. Педагог учит слушателей самостоятельно добывать знания и эффективно использовать их на практике. Глубокое понимание возрастной психологии, доброжелательность, стремление поддержать слушателя, вселить в него уверенность в собственные силы – вот яркие особенности педагогического почерка Людмилы Евгеньевны.

«Я получаю удовольствие от работы! – говорит Людмила Евгеньевна. – Ни одна другая профессия не дает такого разнообразия, динамичности, такой возможности для творческой реализации, постоянного развития».

Она не боится смелых инициатив, с энтузиазмом идет к поставленной цели, умеет вдохновлять преподавателей, доверяет коллегам – своим полноправным партнерам. Профессиональная компетентность, педагогическое мастерство, способность генерировать новые идеи и внедрять инновационные подходы – именно эти качества, как считает Людмила Евгеньевна, позволяют достигать успехов в различных начинаниях, видеть перспективы, создавать условия для всестороннего развития слушателей.

Профессионализм, богатый педагогический опыт, талант руководителя высоко оценен: деятельность Людмилы Евгеньевны отмечена Почетной грамотой администрации Октябрьского района г. Витебска, Почетной грамотой управления образования Витебского облисполкома.

Но главная награда – уважение, теплота, благодарность слушателей и коллег, удовлетворенность результатами своей работы, осознание правильности выбранной профессии.

Впереди еще много планов, есть новые идеи и задумки, для осуществления которых на кафедре сложилась команда единомышленников: слушателей и преподавателей.

Людмила Евгеньевна считает, что если человек уверенно идет к своей цели, полностью отдан общему делу, прикладывает максимальные усилия для достижения поставленной цели, то все у него получится. И это она доказывает всей своей жизнью.

Поздравляем уважаемую Людмилу Евгеньевну с юбилеем и желаем ей крепкого здоровья, душевного спокойствия и творческого вдохновения, новых успехов.

*Коллектив кафедры химии факультета
профориентации и довузовской подготовки ВГМУ*

ПОЗДРАВЛЯЕМ С НАГРАДАМИ!

Приказом министра здравоохранения Республики Беларусь за многолетнюю плодотворную работу, высокий профессионализм, значительный личный вклад в организацию и оказание медицинской помощи знаком «Отличник здравоохранения Республики Беларусь» награждён профессор кафедры патологической анатомии с курсом судебной медицины Яблонский Михаил Фёдорович.

Решением Витебского областного исполнительного комитета за плодотворную научно-педагогическую деятельность, высокий профессионализм, значительный личный вклад в оказание медицинской помощи населению Почётной грамотой Витебского областного исполнительного комитета награждён профессор кафедры акушерства и гинекологии Семёнов Дмитрий Михайлович.

Совет Палаты представителей Национального собрания Республики Беларусь за большой вклад в реализацию социальной политики Республики Беларусь наградил Почётной грамотой Национального собрания Республики Беларусь проректора по лечебно-фармацевтической работе и последипломному обучению ВГМУ Щупакову Алину Николаевну.

От души поздравляем коллег с заслуженными наградами!

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Журнал «Вестник ВГМУ» публикует статьи на русском и английском языках по следующим отраслям науки:

- медицинским;
- биологическим (медико-биологические аспекты);
- фармацевтическим;
- психологии и педагогике.

Вне очереди публикуются научные статьи аспирантов последнего года обучения (включая статьи, подготовленные ими в соавторстве), при условии их полного соответствия требованиям, предъявляемым к научным публикациям издания.

Статья должна быть тщательно отредактирована и выверена. Рукопись должна быть визирована всеми авторами. Это означает, что за правильность приведенных данных ответственность несут авторы. В исключительных случаях, для оценки достоверности результатов, редакция может запросить копии документов, подтверждающих представляемые материалы.

Объем полноразмерной оригинальной статьи должен составлять не менее 14 000 печатных знаков, включая пробелы между словами, знаки препинания, цифры и другие.

При подготовке текста статьи на компьютере необходимо использовать программу Microsoft Word. Размеры полей: сверху – 2 см; снизу – 2 см; слева – 2 см; справа – 2 см. Рукопись печатается через двойной интервал с выделенными жирным заголовками и подзаголовками. Все страницы, начиная с титульной, должны быть последовательно пронумерованы.

В статье следует применять только общепринятые символы и сокращения. При необходимости их использования аббревиатуру в тексте необходимо расшифровывать при первом упоминании (это относится также и к резюме). Сокращения в названии можно использовать только в тех случаях, когда это абсолютно необходимо. Все величины выражаются в единицах Международной Системы (СИ). Применяются только международные непатентованные названия лекарственных средств.

Структура рукописи

Рукопись статьи должна включать следующие части:

1. Титульный раздел
2. Структурированное резюме и ключевые слова на русском и английском языках
3. Введение
4. Материал и методы
5. Результаты
6. Обсуждение
7. Заключение
8. Литература
9. Рисунки и таблицы

1. Титульный раздел должен содержать:

Название статьи – должно быть максимально кратким, информативным и точно определять содержание статьи.

Фамилию и инициалы автора (авторов) – при написании авторов статьи фамилию следует указывать до инициалов имени и отчества;

Официальное название учреждений, в которых выполнялась работа.

Сведения об авторах – указываются полностью фамилии, имена, отчества авторов, ученые степени и звания, должности, место работы (название учреждения, кафедры, отдела), ORCID (если есть). Все лица, обозначенные как авторы, должны соответствовать критериям этого понятия (см. рекомендации ICJME).

Адрес для корреспонденции – приводятся рабочий почтовый адрес места работы или домашний адрес, телефоны, электронный адрес того автора, с кем следует вести редакционную переписку. Адрес для корреспонденции публикуется вместе со статьей.

Благодарности – авторы могут выразить благодарности людям или организациям, способствовавшим публикации рукописи в журнале, но не являющимся её авторами (научное руководство или консультация, критический анализ исследования, сбор данных, финансирование, техническое и лингвистическое редактирование, предоставление пациентов для участия в исследовании и их лечение, предоставленные данные, в том числе рисунки и пр.). Хорошим тоном считается выражение благодарности анонимным рецензентам.

Информацию об источнике поддержки в виде грантов, оборудования, лекарственных препаратов: указывается источник финансирования как научной работы, так и процесса публикации статьи (фонд, коммерческая или государственная организация, частное лицо и др.).

Наличие / отсутствие конфликта интересов. Наиболее частая причина возникновения конфликта интересов – финансовые отношения. Возможны и другие причины: личные отношения, научное соперничество.

Количество рисунков и таблиц. Если количество рисунков и таблиц не указано на титульной странице, редакции и рецензентам бывает трудно определить, все ли рисунки и таблицы, которые должны сопровождать рукопись, были в неё включены.

2. Структурированное резюме оригинальной научной статьи должно точно отражать содержание статьи и быть пригодным для опубликования отдельно от нее, содержать ключевые слова, позволяющие индексировать данную статью.

Резюме должно включать разделы «Цель», «Материал и методы», «Результаты», «Заключение», «Ключевые слова» (не менее 6) и «Источники финансирования» и быть представленным на двух языках: русском и английском. Объем резюме должен составлять около 200-250 слов.

Резюме других видов статей (краткие сообщения, обзоры, случаи из практики) не структурируются, объем их должен составлять не менее 100-150 слов.

В резюме на английском языке обязательно указываются фамилии и инициалы авторов на английском языке. Резюме статей, ключевые слова на русском и английском языках, информация об авторах, а также приставные библиографические списки размещаются на сайте журнала и отсылаются редакцией в электронные информационные базы для индексации.

3. В разделе «Введение» статьи описывается состояние изучаемой проблемы и её актуальность. Указывается цель исследования либо гипотеза, проверяемая исследованием или наблюдением и, если необходимо, указана ее связь с важными научными и практическими направлениями. Анализ источников, использованных при подготовке научной статьи, должен свидетельствовать о знании автором (авторами) статьи научных достижений в соответствующей области. Обязательными являются ссылки на работы других авторов. При этом должны присутствовать ссылки на публикации последних лет, включая зарубежные публикации в данной области.

4. Раздел «Материал и методы» должен содержать детальную характеристику объектов исследований, описание использованных методов, оборудования, диагностических и лечебных технологий. На методики исследований должны быть представлены ссылки.

При описании экспериментов, проводившихся на людях, авторы должны указать, соответствовала ли процедура этическим стандартам локального и национального комитета, отвечающего за эксперименты на людях, а также требованиям Хельсинкской Декларации Всемирной медицинской ассоциации. При описании экспериментов на животных авторы должны указать, действовали ли они в соответствии с локальными и национальными требованиями к использованию и обращению с лабораторными животными.

5. Раздел «Результаты» должен подробно освещать содержание исследований и их результаты, которые следует отражать, максимально используя рисунки и таблицы. Важно, чтобы проиллюстрированная информация не дублировала уже приведенную в тексте. При необходимости раздел может делиться на подразделы (с разъяснительными заголовками).

Представленные в статье результаты желательно сопоставить с предыдущими работами в этой области как автора, так и других исследователей. Такое сравнение дополнительно раскроет новизну проведенной работы, придаст ей объективности.

Формулы, уравнения и сноски, встречающиеся в статье, должны быть пронумерованы в соответствии с порядком цитирования в тексте.

6. В разделе «Обсуждение» полученные результаты должны быть обсуждены с точки зрения их научной новизны и сопоставлены с соответствующими известными данными.

7. **Заключение.** Должны быть четко сформулированы выводы и в сжатом виде отразить основные полученные результаты с указанием их новизны, преимуществ и возможностей применения. Выводы необходимо сопоставить с целями исследования.

8. **Литература** оформляется в соответствии с ГОСТом – 7.1-2003. Ссылки нумеруются согласно порядку цитирования в тексте. Порядковые номера ссылок должны быть написаны внутри квадратных скобок, например: [1, 2].

В оригинальных статьях желательно цитировать не более 15 источников, в обзорах литературы – не более 50. Желательно цитировать источники, опубликованные в течение последних 5-7 лет. В статье не допускаются ссылки на авторефераты диссертационных работ или сами диссертации, т.к. они являются рукописями. Ссылки на тезисы и статьи в малотиражных региональных сборниках можно использовать только при крайней необходимости.

Авторы несут полную ответственность за точность и полноту всех ссылок, и точность цитирования первоисточников.

Редакция с целью максимального снижения неполноты или неточности информации в приводимых пристатейных списках литературы проводит в обязательном порядке проверку всех ссылок и сама оформляет References (литературу на английском языке) в формате Vancouver.

9. **Таблицы, иллюстрации и рисунки** должны быть набраны в отдельном файле, через один интервал, иметь название и подстрочные примечания (если необходимо). Убедитесь, что каждая таблица и рисунок процитированы в тексте. В названиях таблиц и рисунков не должно быть сокращений. Непосредственно в таблицах (в заголовках строк или столбцов) или в их названии указывается, какие статистические показатели приводятся.

Формат рисунка может быть TIFF, JPEG, CDR; разрешение не менее 300 dpi. Диаграммы, выполненные в приложении MS Excel, необходимо представлять в формате .xls, что позволит провести их допечатную подготовку. Диаграммы печатаются при помощи монохромной печати, поэтому при их оформлении предпочтительно использовать узорную заливку объектов и различный характер линий.

Подписано в печать 27.09.2019 г. Формат 1/8.

Бумага офсетная. Гарнитура «Таймс». Усл.печ. л. 15,81.

Тираж 200 экз. Заказ

Издатель и полиграфическое исполнение УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Лицензия ЛП № 02330/453 от 30.12.2013.

Адрес: пр-т Фрунзе, 27, г. Витебск, Республика Беларусь, 210009.

При перепечатке материалов ссылка на «Вестник ВГМУ» обязательна.
